

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรง
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 8ว

ของ

นางสาวหงนุช เมธิยนต์พิริยะ
นักวิทยาศาสตร์ 7ว

เรื่องที่ 2

ศึกษาวิธีวิเคราะห์สีผสมอาหารในลูกกวาดเชิงคุณภาพและปริมาณ

ผู้ร่วมดำเนินการ

นางสาวสุจิตรา วิมลจิตต์
นักวิทยาศาสตร์ 7ว

โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
กรมวิทยาศาสตร์บริการ
กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
พ.ศ. 2547

ข้อมูลข่าวสารของกรมวิทยาศาสตร์บริการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูลข่าวสารของราชการ พ.ศ. 2540

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรง
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 8ว

ของ

นางสาวหงหนู เมธิยนต์พิริยะ
นักวิทยาศาสตร์ 7ว

เรื่องที่ 2

เลขหมู่	๑๗ กช
	— ๑๖ 3
เลขทะเบียน	13907
วันที่	๒๕/๑๒/๕๗

ศึกษาวิธีวิเคราะห์สีผสมอาหารในลูกกวาดเชิงคุณภาพและปริมาณ

ผู้ร่วมดำเนินการ

นางสาวสุจิตรา วิมลจิตต์
นักวิทยาศาสตร์ 7ว

โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
กรมวิทยาศาสตร์บริการ
กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
พ.ศ. 2547

บทคัดย่อ

สีผสมอาหารเป็นวัตถุเจือปนอาหารใช้เติมเพื่อแต่งสีอาหารหรือผลิตภัณฑ์ให้มีสีสันนํารับประทานเพื่อจูงใจผู้บริโภค อย่างไรก็ตามสีผสมอาหารส่วนใหญ่มักมีสารประกอบเป็นพวกโลหะหนักซึ่งมีส่วนทำให้เป็นโรคมะเร็งหรือความผิดปกติต่อระบบของร่างกาย อาหารที่มีการเติมสีเป็นปริมาณมากๆ ได้แก่ ลูกกวาด น้ำหวาน และไอศกรีม ซึ่งแม้กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้ได้ แต่ผู้บริโภคซึ่งส่วนใหญ่เป็นเด็กอาจเกิดอันตรายได้ถ้าบริโภคในปริมาณมากเป็นประจำ จึงได้ศึกษาทดลองเพื่อหาปริมาณสีผสมอาหารในผลิตภัณฑ์ลูกกวาดซึ่งมีสีสดใส ซึ่งจำหน่ายตามร้านค้าทั่วไป โดยใช้วิธีรังคเลขผิวนาง (Thin Layer Chromatography, TLC) เครื่องยูวี-วิซีเบล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิกวิดโครมาโตกราฟี (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) เพื่อหาชนิดและปริมาณสีสังเคราะห์ในลูกกวาด สำหรับใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารประเภทนี้ เพื่อให้เกิดความปลอดภัยแก่ผู้บริโภคมากขึ้น ผลการทดลองหาชนิดของสีในลูกกวาดจำนวน 28 ตัวอย่าง โดยใช้รังคเลขผิวนาง พบว่ามี 9 ตัวอย่างใช้สีเดียว ส่วนอีก 19 ตัวอย่างใช้สีผสมมากกว่า 1 ชนิด โดยใช้สีผสม 2 ชนิด จำนวน 14 ตัวอย่าง และสีผสม 3 ชนิด จำนวน 6 ตัวอย่าง และเมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสีโดยใช้เครื่องยูวี-วิซีเบล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิกวิดโครมาโตกราฟี พบว่าตัวอย่างที่ใช้สีเดียวนั้น มี 2 ตัวอย่างมีปริมาณสีตาร์ตราซิน อยู่ในช่วง 46.4 – 49.4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม 6 ตัวอย่าง มีปริมาณสีบิลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ อยู่ในช่วง 0.81-33.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 1 ตัวอย่าง มีปริมาณสีออสุราเรด เท่ากับ 5.90 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ส่วนผลรวมของปริมาณสีผสม 2 ชนิด อยู่ในช่วง 8.61 – 83.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และผลรวมของปริมาณสีผสม 3 ชนิด อยู่ในช่วง 13.3 – 37.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จากการหาชนิดและปริมาณสีในตัวอย่างลูกกวาด 28 ตัวอย่าง มี 6 ตัวอย่าง ใช้สีที่ไม่อนุญาตให้ใช้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 21 (พ.ศ. 2522) และฉบับที่ 66 (พ.ศ. 2525) คือ พบสีออสุราเรด ส่วนที่เหลืออีก 22 ตัวอย่าง พบว่าใช้ชนิดและปริมาณสีเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข จำนวน 21 ตัวอย่าง อีก 1 ตัวอย่างใช้สีที่อนุญาตให้ใช้ได้ แต่ผลรวมของปริมาณสีเกินเกณฑ์กำหนด จะเห็นได้ว่าการใช้สีผสมอาหารทั้งชนิดและปริมาณต่างๆกันรวมทั้งมีการใช้สีที่ไม่อนุญาตให้ใช้ ดังนั้นผู้ประกอบการควรจะนำข้อมูลไปปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
สารบัญ	ii
ภาคผนวก ก และ ข	iii
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 คำนำ	1
1.2 ปัญหาและที่มา	1
1.3 วัตถุประสงค์	2
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ	2
1.5 ระยะเวลาดำเนินการ	2
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	3
- ความเป็นพิษของการใช้สีผสมอาหาร	4
- เทคนิคการวิเคราะห์สีสังเคราะห์	7
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการ	
3.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง	9
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	9
3.3 สารเคมี สารละลาย และวิธีการเตรียม	10
3.4 วิธีเตรียมแผ่นรองคเลขผิวบาง (thin plate)	11
3.5 การดำเนินงาน	12
บทที่ 4 ผลการทดลอง	17
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	19
กิตติกรรมประกาศ	21
เอกสารอ้างอิง	22

ภาคผนวก

	หน้า
ภาคผนวก ก ตาราง	
ตารางที่ 1 สีสั่งเคราะห์บางชนิดที่เชื่อว่าทำให้เกิดเนื้องอก	24
ตารางที่ 2 ปริมาณสีสั่งเคราะห์ที่ร่างกายควรได้รับแต่ละวัน	25
ตารางที่ 3 ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของสี	26
ตารางที่ 4 ผลการทดลองหาชนิดของสีตัวอย่างลูกกวาด 28 ตัวอย่าง โดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)	27-28
ตารางที่ 5 ผลการทดลองหาปริมาณสีเดี่ยวในตัวอย่างลูกกวาด 9 ตัวอย่าง โดยวิธียูวี - วิชิเบล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์	29
ตารางที่ 6 ผลการทดลองหาปริมาณสีผสมในตัวอย่างลูกกวาด 22 ตัวอย่าง โดยเครื่อง HPLC	30-31
ภาคผนวก ข รูปภาพและโครมาโทแกรมการวิเคราะห์ปริมาณสี	
รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสีตาร์ตราซิน	5
รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสีซัลเช็ตเฮลโลว์ เอ็ฟ ซี เอ็ฟ	5
รูปที่ 3 แสดงส่วนประกอบของเครื่องมือ HPLC	8
รูปที่ 4 แสดงการเคลื่อนที่ของสารละลายมาตรฐานของสีผสมอาหารและ สารละลายตัวอย่างในตัวทำละลายชนิดที่ 1	34
รูปที่ 5 แสดงการเคลื่อนที่ของสารละลายมาตรฐานของสีผสมอาหารและ สารละลายตัวอย่างในตัวทำละลายชนิดที่ 2	35
รูปที่ 6 แสดงการติดสีผสมอาหารของไหมพรมในสารละลายมาตรฐานสีผสมอาหาร	36
รูปที่ 7 แสดงลักษณะของสีผสมอาหารจำพวกอินทรีย์ที่ได้จากการสังเคราะห์	37
รูปที่ 8 แสดงลักษณะของสีผสมอาหารจำพวกสีที่ได้จากธรรมชาติโดยการสกัดพืช และสัตว์ที่ใช้บริโภคได้โดยไม่เกิดอันตรายและสีชนิดเดียวกันที่ได้จาก การสังเคราะห์	38
รูปที่ 9 แสดงลักษณะของสีผสมอาหารจำพวกสีที่ได้จากอนินทรีย์	39
โครมาโทแกรมการวิเคราะห์ปริมาณสี	40-45

บทที่ 1

บทนำ

1.1 คำนำ

สีผสมอาหาร ที่ถูกนำมาเติมใส่ในอาหารหลายชนิดเพื่อผลประโยชน์บางอย่าง และทำให้อาหารเหล่านั้นมีสีสันชวนรับประทานและจูงใจผู้บริโภค ในทางโภชนาการถือว่าสารเคมีที่ประกอบในสีผสมอาหาร ไม่ใช่สารอาหารที่ให้คุณค่าในทางตรงกันข้ามกลับให้โทษต่อร่างกายของผู้บริโภคมากกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งสีผสมอาหารที่ให้สีอย่างฉูดฉาดมักจะพบบ่อยมาก ได้แก่ ลูกกวาด ขนม ไอศกรีม และน้ำหวาน สีผสมอาหารที่ใช้ในอาหารเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นสีผสมอาหารชนิดสังเคราะห์ และมักมีสารประกอบเป็นพวกโลหะหนัก เช่น ปรอท ตะกั่ว แคดเมียม สารประกอบพวกโลหะหนักเหล่านี้มีส่วนทำให้ผู้บริโภคเป็นโรคมะเร็งได้ เนื่องจากสารกลุ่มนี้บางชนิดแสดงฤทธิ์ในการก่อมะเร็งได้โดยตรง บางชนิดมีบทบาทในการกระตุ้นหรือสนับสนุนการก่อมะเร็งในบางอวัยวะ และมีบทบาทโดยตรงในขั้นตอนของกลไกการเกิดมะเร็ง การบริโภคสีสังเคราะห์ยังเป็นสาเหตุของการแสดงความผิดปกติของร่างกายในหลายระบบด้วย (ตารางที่ 1) เช่น แสดงอาการผิดปกติต่อระบบประสาท ประสาทหลอน ความจำเสื่อม และบางรายเป็นคนปัญญาอ่อนได้ นอกจากนี้โลหะหนักยังทำให้เกิดพิษต่อเซลล์ของเม็ดเลือดแดง ทำให้เกิดโรคโลหิตจาง และไปทำลายเซลล์ตับ ม้าม ไต ทำให้เกิดไตอักเสบ ตับอักเสบ เป็นต้น

1.2 ปัญหาและที่มา

การใช้สีผสมอาหารเติมลงในอาหารมีมาช้านานแล้วเพื่อให้อาหารมีลักษณะสวยงาม น่ารับประทาน สีผสมอาหารแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ สีผสมอาหารจากธรรมชาติและสีผสมอาหารสังเคราะห์ การใช้สีผสมอาหารจากธรรมชาติแม้จะไม่ใช่อันตราย แต่มีการนำสีสังเคราะห์นำมาใช้ในอาหารแทนสีธรรมชาติ เนื่องจากสีสังเคราะห์มีความสม่ำเสมอของสี ทำให้ควบคุมคุณภาพของสีได้ง่ายกว่าสีธรรมชาติ ราคาถูกและมีสีให้เลือกมาก สีสังเคราะห์เหล่านี้ใช้เติมลงในอาหารที่ประชาชนบริโภคกันเป็นประจำเกือบทุกวันและติดต่อกันเป็นเวลานาน ตารางที่ 2¹ แสดงปริมาณสีที่ร่างกายควรได้รับในแต่ละวันซึ่งจะแตกต่างกันแล้วแต่ชนิดของสี อาหารที่นิยมเติมสีผสมอาหารเป็นปริมาณมากๆ ได้แก่ ลูกกวาด ซึ่งสีสังเคราะห์บางชนิดมีอันตรายและในปัจจุบันไม่อนุญาตให้ใช้เติมลงในอาหาร เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคซึ่งส่วนใหญ่เป็นเด็กที่นิยมบริโภคลูกกวาด จึงได้เลือกลูกกวาดเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อศึกษาชนิดของสีและปริมาณสีสังเคราะห์

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 สีสันลูกกวาดเป็นสีเดี่ยวหรือสีผสม

1.3.2 เป็นสีผสมอาหารที่ใช้ตามพระราชบัญญัติประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 66 (พ.ศ. 2525) หรือไม่

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ

- เพื่อความปลอดภัยและคุ้มครองผู้บริโภค

1.5 ระยะเวลาดำเนินการ

- ธันวาคม 2546 – มีนาคม 2547

บทที่ 2 วารสารปริทัศน์

วัตถุเจือปนอาหารหมายถึงวัตถุซึ่งตามปกติไม่ใช่บริโภคเป็นอาหารหรือเป็นส่วนผสมของอาหาร ทั้งนี้ไม่ว่าวัตถุนั้นจะมีคุณค่าทางโภชนาการหรือไม่ การเติมวัตถุเจือปนลงในอาหารขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ทางด้านเทคนิคของกรรมวิธีการผลิตในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารตามต้องการ เพื่อประโยชน์ทางเทคโนโลยีการผลิต การบรรจุ การเก็บรักษา และการขนส่ง ซึ่งมีผลต่อคุณภาพหรือลักษณะของอาหาร

วัตถุเจือปนอาหารแบ่งออกเป็นหลายประเภทตามสมบัติของสารที่ใช้ ผู้ประกอบการควรใช้ตามวัตถุประสงค์และตามความเหมาะสม ตัวอย่างเช่น สารกันบูดหรือสารกันเสีย (preservatives) สารกันหืนและสารเสริมฤทธิ์สารกันหืน (anti-oxidants and antioxidant synergists) สารปรุงแต่งกลิ่นรส (flavoring agents) อิมัลซิไฟเออร์ (emulsifiers) สีสผสมอาหาร (food colors) สารให้ความหวาน (sweeteners) ดังนั้นผู้ประกอบการจึงจำเป็นต้องมีความรู้เกี่ยวกับการใช้วัตถุเจือปนอาหารเป็นอย่างดี และมีความระมัดระวังในการใช้โดยควรใช้ตามปริมาณที่เหมาะสม วัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ควรมีคุณภาพตามข้อกำหนดในมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (พ.ศ. 2527) เรื่องวัตถุเจือปนอาหาร กล่าวคือต้องมีความบริสุทธิ์ ปราศจากสารปนเปื้อนในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค

สีผสมอาหารเป็นวัตถุเจือปนอาหารชนิดหนึ่ง ใช้เติมเพื่อแต่งสีอาหารหรือผลิตภัณฑ์ให้มีสีสันสวยงาม ตามพระราชบัญญัติควบคุมการใช้สีผสมอาหารของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 66 (พ.ศ. 2525)² ได้กำหนดการใช้สีผสมอาหารในอาหารประเภทลูกกวาด ไอศกรีม เครื่องดื่ม และขนมหวาน โดยอนุญาตให้ใช้สีผสมอาหารได้ดังนี้

- เอโซรูบีน เออร์โทรซัน คาร์ตราซิน ซันเซ็ท เยลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ ฟาสต์กรีน เอ็ฟซีเอ็ฟ อินดิโกคาร์มีน ปริมาณสีให้เติมได้ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม ต่ออาหารที่ใช้บริโภค 1 กิโลกรัม
- ส่วนสีปองโซ 4 อาร์ และสึบิลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ ให้ใช้ได้ไม่เกิน 50 มิลลิกรัม ต่ออาหารที่ใช้บริโภค 1 กิโลกรัม

นอกจากนี้กระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดสีผสมอาหารเป็นอาหารควบคุมเฉพาะตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 21 (พ.ศ. 2522)² โดยผู้ผลิตหรือผู้ที่ต้องการนำสีผสมอาหารไปใช้จะต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดฉบับนี้

สีผสมอาหารแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ สีที่ได้จากธรรมชาติและสีสังเคราะห์ สีที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่

- ก) สีที่สกัดได้จากสัตว์ เช่น

สีแดงของโคชินิล (cochineal) จากครั่ง

ข) สีที่สกัดได้จากพืช เช่น

- สีเขียวของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) จากใบเตย ใบบัวบก ใบพริก ใบผักคะน้า
- สีแดงจากข้าวแดง กระเจี๊ยบ ดอกคำแสด
- สีเหลืองจากขมิ้น (turmeric) ดอกโสน หญ้าฝรั่ง (saffron) ดอกคำฝอย ฟักทอง ดอกดาวเรือง
- สีม่วงจากดอกอัญชัน ข้าวเหนียวดำ
- สีส้มของแคนทาแซนทีน (canthaxanthin) จากมะเขือเทศสุก
- สีน้ำตาลจากผงโกโก้ น้ำตาลเคี้ยวไหม้ ผงกาแฟ
- สีดำจากถ่านกากมะพร้าว ถั่วดำ

สีที่ได้จากการสังเคราะห์จากสารเคมี เช่น

- สีแดง ได้แก่ ปองโซ 4 อาร์ (ponceau 4 R) คาร์โมอีซีน (carmoisine) เอริโทรซีน (erythrosine)
- สีเหลือง ได้แก่ ตาร์ตราซีน (tartrasine) ซันเซตเยลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ (sunset yellow FCF)
- สีเขียว ได้แก่ ฟาสต์ กรีน เอ็ฟซีเอ็ฟ (fast green FCF)
- สีน้ำเงิน ได้แก่ อินดิโกคาร์มีนหรืออินดิโกทีน (indigocamine or indigotine) บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ (brilliant blue FCF)
- สีขาว ได้แก่ ไทเทเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide)

ความเป็นพิษของการใช้สีผสมอาหาร

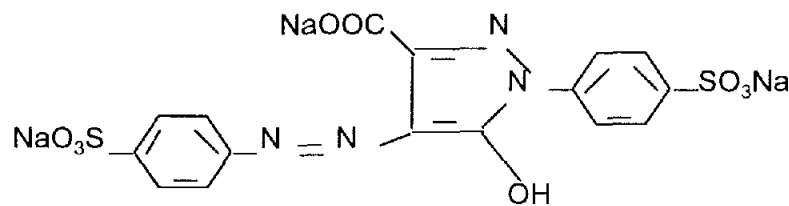
สีผสมอาหารที่เป็นสีสังเคราะห์มีหลายชนิด (ตารางที่ 1)¹ แต่ปัจจุบันอนุญาตให้ใช้ได้เพียงไม่กี่ชนิด ในปี พ.ศ. 2537 สีสังเคราะห์ที่ประเทศสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้ได้มี 7 ชนิด คือ เอริโทรซีน อินดิโกทีน ตาร์ตราซีน ซันเซตเยลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ ออธูราเรด เอซี ออเรนจ์ บี และ ซิทรัส เรด นัมเบอร์ 2

ส่วนประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป อนุญาตให้ใช้สีสังเคราะห์ได้

ดังนั้นแม้จะมีมาตรฐานกำหนดการใช้สีผสมอาหารก็ตาม แต่ถ้าบริโภคในปริมาณที่มากและในระยะเวลาที่ยาวนาน สีผสมอาหารก็อาจถูกสะสมในร่างกายและอาจมีผลต่ออวัยวะบางส่วนของร่างกายได้ จึงมีการศึกษาถึงพิษของสีผสมอาหารในสัตว์ทดลอง เช่น สี FD&C Yellow No.5 และ สี FD&C Yellow No.6

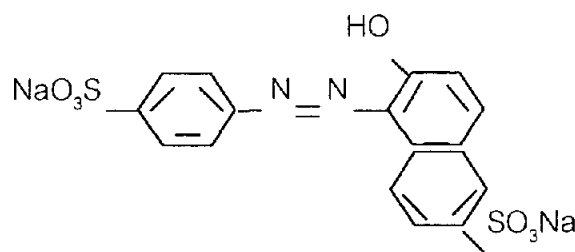
สีตาร์ตราซีน หรือ เอฟ ดี แอนด์ ซี เยลโลว์ เบอร์ 5 (FD&C Yellow No.5) มีสูตรโครงสร้างตามรูปที่ 1 และมีชื่อทางเคมี คือ ไตรโซเดียม-3-คาร์บอกซี-5-ไฮดรอกซี-1-พารา-ซัลโฟฟีนิล-4-พารา-ซัลโฟฟีนิลอะโซ-ไพราโซล (trisodium-3-carboxy-5-hydroxy-1-p-sulfophenyl-4-p-sulfophenylazo-pyrazole) เป็นสีที่มี heterocyclic ring ในโมเลกุล

สีตาร์ตราซีนนี้เคยนำมาใช้ผสมในอาหาร ยาสีฟัน และยาบางชนิด จากการศึกษาพิษของสีตาร์ตราซีนในหนูและสุนัข โดยผสมสีนี้ลงในอาหารประมาณร้อยละ 5 แล้วนำไปใช้เลี้ยงสัตว์ทดลองเป็นเวลานาน 2 ปี พบว่าไม่มีพิษและไม่มีเนื้องอก แต่มีรายงานว่าทำให้เกิดอาการแพ้และหอบหืดแก่ผู้บริโภคนบางคนได้แม้จะได้รับปริมาณสีตาร์ตราซีนเล็กน้อยประมาณ 0.15 มิลลิกรัม ก็เกิดอาการแพ้เฉียบพลันได้ และยังทำให้เกิดผื่นคันด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าสีตาร์ตราซีนทำให้เกิดปฏิกิริยา cross-sensitization reaction ในผู้ป่วยที่มีปฏิกิริยาที่ไวต่อตาร์ตราซีนและแอสไพริน (Tartrazine - and Aspirin - sensitive)



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสีตาร์ตราซีน

สีซันเซตเยลโลว์ (Sunset yellow หรือ FD&C Yellow No.6) มีชื่อทางเคมีคือ กรดไดโซเดียม-1-พารา-ซัลโฟฟีนิลอะโซ-2-แนปทอล-6-ซัลโฟนิค (disodium-1-p-sulfophenylazo-2-naphthol-6-sulfonic acid) และมีสูตรโครงสร้างตามรูปที่ 2 ได้มีการทดสอบพิษเรื้อรังและการเป็นสารก่อมะเร็งของสีซันเซตเยลโลว์ในหนูและสุนัข พบว่าไม่มีพิษเมื่อผสมในอาหารในปริมาณร้อยละ 2-5 แต่สีชนิดนี้ทำให้เกิดอาการแพ้ (allergic reaction) เมื่อใช้ร่วมกับสีตาร์ตราซีนและสีอะมาแรนท (Amarant) นอกจากนี้ยังทำให้เกิดอาการผื่นคันกับผู้ป่วยบางคนด้วย



รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสีซันเซตเยลโลว์

ดังนั้นสาเหตุของอันตรายจากสีผสมอาหารอาจสรุปได้ 2 ประการ คือ อันตรายจากสีผสมอาหารและอันตรายจากสารอื่นที่ปนมากับสีผสมอาหาร

อันตรายจากตัวของสีผสมอาหารเพราะสีทุกชนิดมีอันตรายต่อผู้บริโภคไม่มากนักน้อย เนื่องจากมีของแปลกปลอมเข้าไปในร่างกาย ถ้ามีปริมาณพอ ก็อาจก่อให้เกิดอันตรายแก่ร่างกายได้ เช่น สี พวงโรดาร์มีน บี ออรามิน มาลาโคด์ กรีน และไวโอเล็ต บีพีเอ็น อาจทำให้เกิดผื่นที่ผิวหนัง หน้าบวม อาเจียน ท้องเดิน อากาธา เพลีย และอ่อนแรง คล้ายเป็นอัมพาต การทำงานของระบบเดินอาหาร ไต และตับเสีย เป็นต้น

อันตรายจากสารอื่นที่ปะปนมากับสีผสมอาหาร เนื่องจากการสังเคราะห์และการแยกเอาสารที่ปะปนออกไม่หมด สารดังกล่าวได้แก่ โลหะหนักต่างๆ เช่น แคดเมียมปรอท ตะกั่ว สารหนู พลวง ฯลฯ ซึ่งเป็นอันตรายต่อร่างกายแม้เพียงปริมาณเล็กน้อย

การป้องกันอันตรายจากสีผสมอาหาร³ ต้องอาศัยความร่วมมือจากบุคคลหลายฝ่าย คือ ผู้ผลิต ผู้จำหน่าย ผู้ประกอบอาหาร และผู้บริโภค

- ผู้จำหน่ายหรือผู้ผลิตสีผสมอาหาร ต้องจัดทำฉลากเป็นภาษาไทยให้อ่านได้ชัดเจน โดยมีชื่อสามัญและเลขทะเบียนอาหาร เลขดัชนีสี (ถ้ามี) ชื่อและที่ตั้งของสถานที่ผลิต ชนิดของพืช ผัก ผลไม้ หรือสัตว์ที่เป็นต้นกำเนิดสี
- ผู้ผลิตหรือผู้จำหน่าย ต้องเลือกชนิดที่ตัวสีผสมอาหารเองไม่มีอันตรายหรือมีอันตรายน้อยที่สุด มีความบริสุทธิ์และ เป็นสีที่สังเคราะห์เพื่อใช้ในอาหารเท่านั้น
- ผู้ประกอบอาหารต้องใช้สีผสมอาหารเท่านั้น ห้ามใช้สีย้อมผ้าหรือสีชนิดอื่น และต้องใช้ในปริมาณพอเหมาะ
- ผู้บริโภคควรเลือกบริโภคอาหารที่ไม่มีสี หรือเลือกบริโภคแต่อาหารที่แน่ใจว่ามีสีผสมอาหารซึ่งปลอดภัยเท่านั้น

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสีผสมอาหารที่ใช้ในอาหารประเภทลูกกวาด ไอศกรีม เครื่องดื่ม และขนมหวาน แม้กระทรวงสาธารณสุขจะอนุญาตให้ใช้ได้ แต่หากผู้ผลิตใช้สีที่ไม่ใช่สีผสมอาหารหรือนำสีผสมอาหารที่ไม่ได้มาตรฐานเพื่อลดค่าใช้จ่ายในการผลิต หรือใช้สีผสมอาหารในปริมาณที่เกินกว่ากำหนด ก็อาจทำให้ผู้บริโภคซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นเด็กเกิดอันตรายได้ แม้ อาจจะไม่เห็นเด่นชัดนัก เกิดการแพ้หรือเป็นผื่นคัน แต่อาจสะสมแล้วก่อให้เกิดเป็นมะเร็งในอนาคตได้ โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการมีภารกิจหลักคือ การให้บริการในการวิเคราะห์ทดสอบในผลิตภัณฑ์ต่างๆ จึงได้ศึกษาทดลองเพื่อหาปริมาณสีผสมอาหารในผลิตภัณฑ์ลูกกวาดซึ่งมีสีสดใส โดยใช้วิธีรณรงค์ผิวบาง เครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิกวิดโครมาโตกราฟี (High Performance Liquid

Chromatography, HPLC) ในการหาชนิดและปริมาณสีสังเคราะห์ในลูกกวาด สำหรับใช้เป็น ข้อมูลในการปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารประเภทนี้ เพื่อให้เกิดความปลอดภัยแก่ผู้บริโภคมากขึ้น

เทคนิคการวิเคราะห์สีสังเคราะห์

เทคนิคการวิเคราะห์สีสังเคราะห์นั้นมีหลายวิธี คือการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของ สี ในกรณีที่ต้องการทราบเพียงชนิดของสีสังเคราะห์ที่มีในอาหารแต่ไม่ต้องการทราบปริมาณที่แน่นอนของสีสังเคราะห์ ก็สามารถวิเคราะห์โดยใช้วิธีรงคเลขผิบบาง (Thin Layer Chromatography) ส่วนการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสีสังเคราะห์นั้นมีหลายวิธี ที่นิยมใช้มี 2 วิธี คือ การวัดความเข้มของสีด้วยเครื่อง ยูวี-วิชิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และการใช้เครื่อง HPLC โดยมีหลักการในการวิเคราะห์ดังนี้

วิธีรงคเลขผิบบาง (Thin layer chromatography) : สีสังเคราะห์ชนิดละลายน้ำใน ตัวอย่างจะถูกดึงออกด้วยไหมพรมทำจากขนสัตว์แท้ จากนั้นสีจะถูกสกัดออกจากไหมพรม ด้วยสารละลายแอมโมเนีย ก่อนนำไปวิเคราะห์หาชนิดด้วยวิธีรงคเลขผิบบาง เปรียบเทียบค่า Rf ของสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน

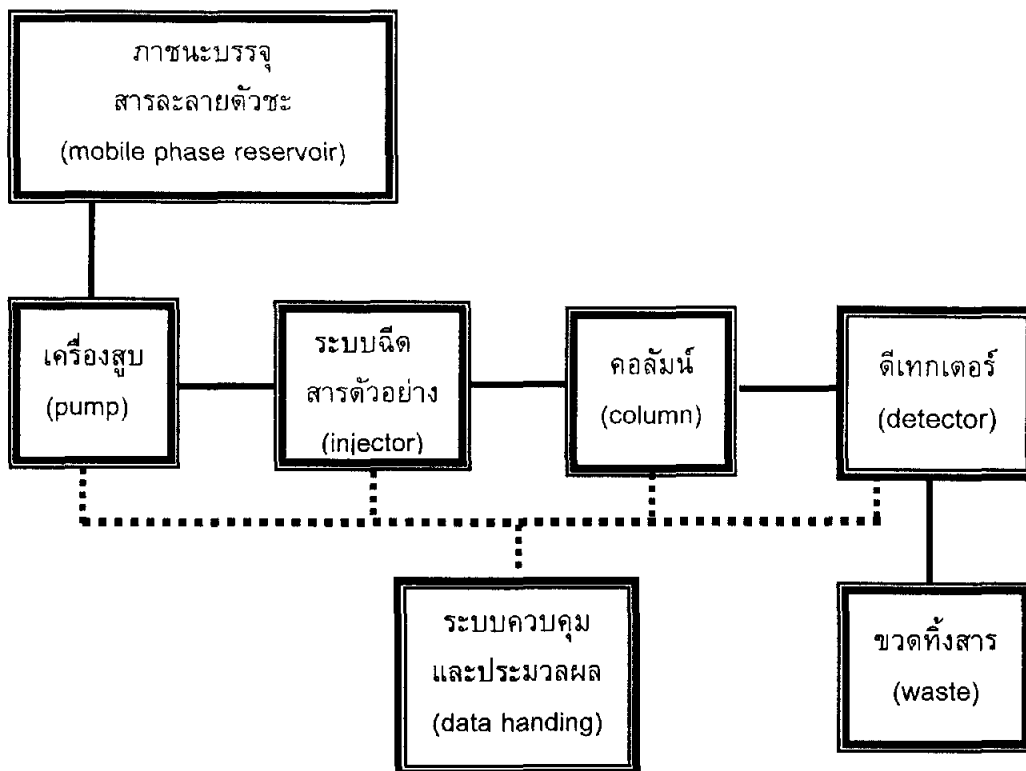
ค่า Rf (Rf value) เป็นอัตราส่วนของระยะทางที่ตัวถูกละลายเคลื่อนที่ต่อระยะทางที่ ตัวทำละลายเคลื่อนที่ รูปที่ 3 แสดงวิธีการคำนวณค่า Rf โดยปกติแล้วการคำนวณหาระยะ ทางให้วัดจากจุดกึ่งกลางของจุด บางครั้งสารมาตรฐานซึ่งมีสมบัติทางเคมีคล้ายกับสารตัว อย่างจะถูกนำมาทดลองพร้อมๆกับตัวอย่าง และสามารถเปรียบเทียบอัตราการเคลื่อนที่ สัมพันธ์ได้ ในกรณีนี้ Rf หมายถึง อัตราส่วนระหว่างระยะทางที่สารประกอบเคลื่อนที่ ต่อระยะ ทางที่สารมาตรฐานเคลื่อนที่

การตรวจหาสารประกอบ หลังจากเสร็จการแยกแล้ว ทำเครื่องหมายหรือขีดเส้นไว้ เพื่อให้ทราบระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ไปก่อนที่จะทำให้แห้ง สารที่ถูกแยกออกจากกัน จะถูกตรวจหาโดยวิธีต่างๆ กัน ซึ่งอาจต้องใช้วิธีทางเคมีหรือวิธีทางกายภาพก็ได้ ถ้าหากสารที่ แยกเป็นสี การตรวจหาจะไม่มีปัญหา อย่างไรก็ตาม สารเคมีส่วนใหญ่เป็นสารที่ไม่มีสี ดังนั้น การตรวจหาสารประกอบจึงต้องใช้วิธีฟลูออโรเมตริกหรือใช้วิธีฟลูออโรเมตริกในสารละลายเคมีเพื่อให้เกิดสี ขึ้น หรือการนำไปส่องด้วยแสงยูวีในกรณีที่สารนั้นเกิดแสงฟลูออเรสเซนซ์ การตรวจหา ประกอบ

การวัดความเข้มของสีด้วยเครื่อง ยูวี-วิชิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ : สีแต่ละชนิด จะมีคุณสมบัติของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างกัน วัดความเข้มของสีในตัวอย่างด้วย เครื่องยูวี-วิชิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นของสีชนิดนั้นๆ แต่วิธีนี้ใช้กับตัวอย่าง ที่มีสีผสมอาหารเพียงชนิดเดียวเท่านั้น

การวิเคราะห์หาปริมาณสิ่งสังเคราะห์โดยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิกวิดโครมาโตกราฟี (High Performamnce Liquid Chromatography, HPLC) : การแยกสารผสมออกจากกัน โดยที่สารแต่ละชนิดในตัวอย่างเกิด differential adsorption ระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสหนึ่ง (stationary phase หรือ คอลัมน์) และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) โดยเฟสหนึ่งเป็นของแข็ง หรือของเหลวเคลือบอยู่บนของแข็ง บรรจุในคอลัมน์ จึงมักเรียกคอลัมน์ ส่วนเฟสเคลื่อนที่เป็นของเหลว เรียกว่าสารละลายตัวชะ (eluent) สารผสมจะแยกออกจากกันได้เนื่องจากเคลื่อนที่ผ่านเฟสหนึ่งโดยการนำพาของเฟสเคลื่อนที่ด้วยเส้นทางที่แตกต่างกัน (differential migration) ซึ่งเป็นผลจากการกระจายตัวของสารแต่ละชนิดที่อยู่ในตัวอย่าง บนเฟสหนึ่งแตกต่างกัน

เครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิกวิดโครมาโตกราฟี (High Performamnce Liquid Chromatography, HPLC) เป็นเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่พัฒนาขึ้นมาจากคอลัมน์โครมาโตกราฟีที่ใช้กันทั่วไป โดยใช้คอลัมน์ขนาดเล็ก เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-5 มิลลิเมตร สารที่บรรจุในคอลัมน์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-10 ไมโครเมตร และใช้เครื่องสูบลดสารละลายตัวชะเข้าสู่ระบบสารละลายตัวชะที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านคอลัมน์ เกิดการแยกสารที่คอลัมน์ สารที่แยกแล้วผ่านเข้าสู่ดีเทกเตอร์ (detector) ตามลำดับ ควบคุมการทำงานด้วยระบบคอมพิวเตอร์ แสดงผลทางจอภาพหรือเครื่องพิมพ์ เป็นกราฟความสัมพันธ์ของเวลา (แกนนอน) กับสัญญาณทางไฟฟ้า (แกนตั้ง) เรียกว่าโครมาโตแกรม การใช้เครื่อง HPLC สำหรับวิเคราะห์สารแต่ละชนิดต้องเลือกใช้คอลัมน์ สารละลายตัวชะและดีเทกเตอร์ให้เหมาะสม สามารถวิเคราะห์สารได้ในปริมาณต่ำระดับไมโครกรัมถึงนาโนกรัม ดังแสดงรูปที่ 3



รูปที่ 3 แสดงส่วนประกอบของเครื่องมือ HPLC

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการ

3.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

ตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ชนิดของสีและปริมาณสี เป็นลูกกวาดชนิดสีต่างๆ จำนวน 28 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 300 กรัม บดตัวอย่างให้ละเอียด

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.2.1 เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS Spectrophotometer)
- 3.2.2 เครื่อง HPLC โดยมีตัวตรวจวัดเป็น ยูวี ดีเทคเตอร์ (UV-Detector)
 - 3.2.2.1 Sep-Pak cartridge
 - 3.2.2.2 คอลัมน์ชนิด C₈ (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตร)
 - 3.2.2.3 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เช่น การ์ดคอลัมน์ หลอดฉีดยา (syringe) ขนาด 10 มิลลิลิตร แผ่นกรองเมมเบรน (ขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร)
- 3.2.3 ตู้ดูดควัน (hood)
- 3.2.4 เครื่องชั่ง อ่านได้ละเอียดถึง 0.01 กรัม และ 0.0001 กรัม
- 3.2.5 เครื่องอ่างไอน้ำ (water bath)
- 3.2.6 เครื่องเป่าลม (air blower) ชนิดลมเย็น
- 3.2.7 แผ่นกระจกใส (glass plate) ขนาด 20 x 20 เซนติเมตร จำนวน 5 แผ่น และแผ่นกระจกใสขนาดเล็ก ขนาด 5 x 20 เซนติเมตร จำนวน 2 แผ่น
- 3.2.8 เครื่องเคลือบผิว (Moving Spreader) ชนิดปรับความหนาได้ตามต้องการ ตั้งแต่ 0 - 2 มิลลิเมตร หรือ 0 - 2000 ไมโครเมตร
- 3.2.9 ถาดพลาสติก (plastic aligning tray) สำหรับวางแผ่นกระจกขนาด 20x20 เซนติเมตร ได้มากกว่า 5 แผ่น
- 3.2.10 แทงค์แก้ว มีฝาปิด (Chromatographic tank) จำนวน 2 ใบ สำหรับจุ่มแผ่นรองเลขผิวบาง
- 3.2.11 หลอดแคปิลลารี (capillary tube) หรือไมโครปิเปตต์ ขนาด 10 ไมโครลิตร
- 3.2.12 แผ่นพลาสติกใส (spotting template) มีสเกลเห็นได้ชัดเจน
- 3.2.13 เครื่องผสม (blender)
- 3.2.14 ชั้นวางกระจก (drying rack) สำหรับวางแผ่นกระจกขนาด 20 x 20 เซนติเมตร ได้ จำนวน 10 แผ่น

3.2.15 เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

3.3 สารเคมี สารละลาย และวิธีเตรียม

3.3.1 ผงเซลลูโลส เอ็มเอ็น 300 (Cellulose powder MN 300 for thin layer chromatography) : Merck

3.3.2 ไหมพรมสีขาวยชนิดขนสัตว์แท้ (100 % pure new wool No.4) ซึ่งได้สกัดเอาไขมันออกด้วยอีเทอร์ ตัดเป็นเส้นๆ ยาวประมาณ 20 เซนติเมตร

3.3.3 โซเดียมซัลเฟต GR : Merck

3.3.4 สารละลายโซเดียมซัลเฟต 2.5% (w/v)

ชั่งโซเดียมซัลเฟต 2.5 กรัม (ข้อ 3.3.3) ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายลงในขวดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.3.5 สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 25% ความถ่วงจำเพาะ 0.91 Analar : BDH

3.3.6 สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 5% (v/v)

ปิเปต 20 มิลลิลิตร สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 25 (ข้อ 3.3.5) ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.3.7 กรดอะซิติก เกลเซียล 100% Analar : BDH

3.3.8 นอมอล – โพรพานอล ความถ่วงจำเพาะ 0.80 GR : Merck

3.3.9 2-โพรพานอล ความถ่วงจำเพาะ 0.78 reagent grade : Fisher

3.3.10 เอทิลอะซิเตต ความถ่วงจำเพาะ 0.90 GR : Merck

3.3.11 กรดไฮโดรคลอริก 37% ความถ่วงจำเพาะ 1.18 analytical reagent grade: Fisher

3.3.12 กรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์

ปิเปต 8.7 มิลลิลิตร กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (ข้อ 3.3.11) ใส่ลงในขวดแก้วปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.3.13 เมทานอล HPLC grade : Merck

3.3.14 แอมโมเนียมอะซิเตต analytical reagent grade: Fisher

3.3.15 สารละลายแอมโมเนียมอะซิเตต 0.5 โมลาร์

ชั่งแอมโมเนียมอะซิเตต (ข้อ 3.3.14) 38.54 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายลงในขวดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.3.16 สารละลายแอมโมเนียมอะซิเตต 0.044 นอร์มัล

ชั่งแอมโมเนียมอะซิเตต (ข้อ 3.3.14) 3.38 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายลงในขวดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

- 3.3.17 สีมาตรฐาน (ความบริสุทธิ์ ไม่น้อยกว่า ร้อยละ 85)
ชั้นเซ็ด เยลโลว์ เอฟซีเอฟ: FD&C Yellow No.6 CI.No.15985
คาร์โมอิซิน : CI.No.14720
สีปองโซ 4 อาร์ : CI.No.16255
ดาร์ตราซิน เอ็ฟซีเอ็ฟ : EDINBURGH ESSENCE LIMITED
บิลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ : FD&C Blue No.1 CI.No.42090
อินดิโกคาร์มีน GR : Merck
ฟาสต์ กรีน เอ็ฟซีเอ็ฟ CI No.42053 :The British Drug House Ltd.
เออร์โรซิน : CI.No.45430
ออลูราเรด : CI.No.16035

- 3.3.18 สารละลายสีมาตรฐานความเข้มข้น 0.1%
ซึ่งสารมาตรฐานสีชนิดต่างๆ (ข้อ 3.3.17) 0.1 กรัม ละลายน้ำกลั่น
ถ่ายลงในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

- 3.3.19 ตัวทำละลายโครมาโตกราฟฟิก (chromatographic solvent)

ชนิดที่ 1 ผสมสารละลาย โซเดียมซิเตรท 2.5% (ข้อ 3.3.4) 80
มิลลิลิตร + แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 25%(ข้อ 3.3.5) 20
มิลลิลิตร : (80+20)

ชนิดที่ 2 ผสมสารละลายนอมอล -โพรพานอล (ข้อ 3.3.8) 60มิลลิลิตร
+ เอทิลอะซิเตต (ข้อ 3.3.10) 10มิลลิลิตร + น้ำกลั่น 30
มิลลิลิตร : (60+10+30)

- 3.3.20 เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) : เมทานอล (ข้อ 3.3.13) + แอมโมเนียมอะซิเตต 0.5 โมลาร์ (ข้อ 3.3.15) อัตราส่วนเป็นแบบ gradient

- 3.3.21 สารละลายสกัดสี

ผสม 2- โพรพานอล(ข้อ 3.3.9) : น้ำกลั่น : แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์
(ข้อ 3.3.5) อัตราส่วน 10:10:1

3.4 วิธีเตรียมแผ่นรองเคลือบผิวบาง (thin plate)⁵

- 3.4.1 นำแผ่นกระจกสีเหลี่ยมขนาด 20 x 20 เซนติเมตร จำนวน 5 แผ่น (ข้อ 3.2.7)
ล้างให้สะอาด ทำให้แห้ง แล้ววางเรียงลงในถาดพลาสติก (ข้อ 3.2.9) แล้ว
นำแผ่นกระจกขนาดเล็กอีก 2 แผ่น (ข้อ 3.2.7) วางประกบหัวและท้าย ใช้
สำลีชุบแอลกอฮอล์หรืออะซิโตนเช็ดบนแผ่นกระจกให้สะอาดอีกครั้งหนึ่ง
- 3.4.2 วางเครื่องเคลือบผิว (ข้อ 3.2.8) ที่ปรับความหนา 250 ไมโครเมตร เหนือ
แผ่นกระจกที่เตรียมไว้

3.4.3 ชั่งผงเซลลูโลส 15 กรัม (ข้อ 3.3.1) ใส่ลงในเครื่องผสม (ข้อ 3.2.13) เติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันนาน 3 นาที จากนั้นเทลงในเครื่องเคลือบผิว (ข้อ 3.2.8) หมุนปุ่มของเครื่องเคลือบผิวกลับไปทางตรงกันข้ามจนสุด แล้วจับเครื่องเคลือบผิวทั้ง 2 ปลาย ค่อยๆ เลื่อนเครื่องเคลือบผิวอย่างช้าๆ ผ่านกระจก โดยพยายามให้สารละลายเซลลูโลสหรือตัวดูดซับ (adsorbent) ไหลลงเคลือบบนแผ่นกระจกทั้ง 5 แผ่นอย่างสม่ำเสมอจนทั่ว เมื่อเครื่องเคลือบผิวเลื่อนมาจนถึงแผ่นกระจกสุดท้าย หมุนเครื่องเคลือบผิวกลับขึ้นเพื่อมิให้สารละลายเซลลูโลสที่เหลืออยู่ไหลออกมาอีกต่อไป ทิ้งให้แผ่นกระจกที่เคลือบสารละลายเซลลูโลสแห้งนาน 10 นาที แล้วจึงยกออกมาเก็บไว้ในชั้นวางกระจก (ข้อ 3.2.14) ทิ้งไว้ค้างคืน หรือทำให้แห้งโดยเข้าตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิประมาณ 105°C นาน 30 นาที แล้วทำให้เย็นถึงอุณหภูมิห้องก่อนนำมาใช้

3.5 การดำเนินงาน

3.5.1 วิธีเตรียมตัวอย่าง

- 3.5.1.1 ชั่งตัวอย่าง 10 – 30 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมกรดอะซิติก เกลเชียล (ข้อ 3.3.7) 1-2 มิลลิลิตร
- 3.5.1.2 เติมน้ำกลั่นประมาณ 30-50 มิลลิลิตร (ขึ้นอยู่กับปริมาณตัวอย่างที่ใช้ โดยสารละลายในบีกเกอร์ควรมีปริมาตรประมาณ 60 มิลลิลิตร)
- 3.5.1.3 ใส่ไหมพรม (ข้อ 3.3.2) 5-7 เส้น (ขึ้นอยู่กับความเข้มของสีในตัวอย่าง) คนให้สารละลายในบีกเกอร์ผสมกันและไหมพรมกระจายตัว
- 3.5.1.4 นำบีกเกอร์ตั้งบนเครื่องอังไอน้ำ (ข้อ 3.2.5) อุณหภูมิ $90 - 100^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลานาน 30 นาที หรือจนกว่าสารละลายตัวอย่างไม่มีสี
- 3.5.1.5 นำไหมพรมไปล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 3.5.1.6 เติมสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 5% (ข้อ 3.3.6) จำนวน 30 มิลลิลิตร
- 3.5.1.7 นำบีกเกอร์ตั้งบนเครื่องอังไอน้ำ อุณหภูมิ $90 - 100^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลานาน 30 นาที
- 3.5.1.8 นำไหมพรมออก และล้างสีในไหมพรมออกจนหมดด้วยน้ำกลั่น ระเหยสารละลายในบีกเกอร์บนเครื่องอังไอน้ำให้เหลือปริมาตรประมาณ 2-3 มิลลิลิตร
- 3.5.1.9 ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่นและเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

- 3.5.1.10 ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 10 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสีโดยใช้เครื่องยูวี-วิชิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์(ข้อ 3.2.1) ในกรณีที่มีสีผสมอาหารเพียงชนิดเดียวในตัวอย่าง หรือหาปริมาณสีโดยใช้เครื่อง HPLC (ข้อ 3.2.2) ถ้าในตัวอย่างมีสีผสมอาหารมากกว่า 1 ชนิด
- 3.5.1.11 นำสารละลายส่วนที่เหลือจากข้อ 3.5.1.10 ไปวิเคราะห์หาชนิดของสีต่อไป
- 3.5.2 วิธีวิเคราะห์ชนิดของสี^{4,5,6,7,8}
- 3.5.2.1 นำแผ่นกระจกที่เคลือบแล้ว (ข้อ 3.4.3) มาทำการวิเคราะห์ชนิดของสี โดยนำแผ่นกระจกมา 1 แผ่น แล้วนำแผ่นพลาสติกใส (ข้อ 3.2.12) วางให้ขอบล่างของแผ่นพลาสติกใสห่างจากขอบล่างของแผ่นกระจกเข้ามา 1.5 เซนติเมตร เพื่อใช้เป็นแนวตั้งต้น (starting line) ใช้ดินสอจุดเบาๆ โดยให้แต่ละจุดห่างกัน 2 เซนติเมตร จากนั้นขีดเส้นของตัวทำละลาย (solvent front) ให้ห่างจากแนวตั้งต้น 10 เซนติเมตร ทำเช่นนี้ในทำนองเดียวกันกับแผ่นกระจกอีก 1 แผ่น
- 3.5.2.2 ใช้หลอดแคปป์ลารี (ข้อ 3.2.11) ดูดสารละลายตัวอย่าง (ข้อ 3.5.1.11) แล้วนำไปหยดลงบนแผ่นกระจกที่มีรอยดินสอจุดไว้ (ข้อ 3.5.2.1) ในการปล่อยสารละลายตัวอย่างนี้ควรให้หยดมีขนาดเล็ก มีเส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกิน 0.5 เซนติเมตร แล้วทำให้แห้งโดยใช้เครื่องเป่าลม (ข้อ 3.2.6) การหยดสารละลายตัวอย่างนี้ ควรทำซ้ำประมาณ 2 – 5 ครั้ง จนเห็นสีเป็นวงกลมชัดเจน
- 3.5.2.3 สำหรับสารละลายสีมาตรฐาน ให้เลือกใช้เฉพาะสีที่คล้ายกับสีในตัวอย่าง การจุดสารละลายสีมาตรฐาน ให้ใช้สีละ 1 จุด ลงบนจุดต่องๆ ไปในแผ่นกระจกเดียวกับตัวอย่าง
- 3.5.2.4. นำแผ่นกระจกอีก 1 แผ่นมาทำซ้ำเช่นเดียว ตั้งแต่ข้อ 3.5.2.1 ถึง 3.5.2.3
- 3.5.2.5 นำแผ่นกระจกทั้ง 2 แผ่นที่ได้ทำการหยดสารละลายตัวอย่างและสารละลายสีมาตรฐาน (ข้อ 3.5.2.2 ถึง ข้อ 3.5.2.4) แล้ว ไปแช่ในแทงค์ (ข้อ 3.2.18) ที่เตรียมไว้แล้ว โดยแผ่นกระจกที่ 1 ใส่ลงในแทงค์ที่ 1 ซึ่งมีตัวทำละลายโครมาโตกราฟีชนิดที่ 1 และแผ่นที่ 2 ลงในแทงค์ที่ 2 โดยให้ทางด้านแนวตั้งต้นจุ่มสารละลายผสมใน

แท่งคอลลีประมาณ 0.5 เซนติเมตร ปิดฝาแท่ง แล้วทิ้งไว้จนสารละลายวิ่งขึ้นไปถึงเส้นที่ขีดไว้ (sorbing front)

สารละลายตัวอย่างและสารละลายสีมาตรฐานที่จุดไว้บนแผ่นกระจกจะถูกดูดซึม โดยตัวทำละลายที่มีอยู่ในแท่งจะพาเลื่อนขึ้นไปตามแนวเส้นตรงตั้งฉากกับแนวตั้งต้นและแยกสีเป็นจุดๆระยะห่างกันตามอัตราของการดูดซึม (rate of adsorption) หรือตามอัตราของการละลาย (rate of solubility) ของสีในเฟสนิ่ง (stationary phase)

3.5.2.6 เมื่อสารละลายในแท่งคอลลีสูงขึ้นไปถึงเส้นปลายสุดที่ขีดไว้ ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ ½ -1 ชั่วโมง เปิดฝาแท่งออก นำแผ่นกระจกออกมาจากแท่ง ทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ดูดควัน

3.5.2.7 เมื่อแผ่นกระจกแห้งแล้ว เปรียบเทียบค่า Rf ของสีในสารละลายตัวอย่างกับสารละลายสีมาตรฐาน

3.5.3 วิธีวิเคราะห์ปริมาณสี^{4,5,6,7,8} โดยใช้เครื่อง ยูวี-วิซิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

3.5.3.1 นำสารละลายตัวอย่าง (ข้อ 3.5.1.10) จำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมกับแอมโมเนียมอะซิเตด 0.044 นอร์มัล (ข้อ 3.3.16) จำนวน 90 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นของแสงตามชนิดของสี (ดูตารางที่ 3 ภาคผนวก) โดยใช้น้ำกลั่นเป็นแบลนค์

3.5.3.2 การคำนวณปริมาณสี จากสูตร

$$\% \text{ สีในตัวอย่าง (Total Color)} = \frac{A \times L \times D}{E^{1\%} \times W} \times 100$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ λ_{\max}

L = ปริมาตรทั้งหมด หน่วยเป็น มิลลิลิตร

D = อัตราส่วนการเจือจาง (dilution factor) ถ้ามีการเจือจาง

$E^{1\%}$ = ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของสี (ดูตารางที่ 3 ภาคผนวก)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง หน่วยเป็น กรัม

3.5.4 วิธีวิเคราะห์ปริมาณสี^{4,5,6,7,8} โดยใช้เครื่อง HPLC

3.5.4.1 นำสารละลายตัวอย่างมา clean up ด้วย Sep-Pak cartridge (ข้อ 3.2.2.1) ยกเว้นกรณีตัวอย่างไม่มีไขมัน สามารถนำสารละลายตัวอย่างมาวิเคราะห์ได้โดยไม่ต้องผ่านวิธีการเตรียมตัวอย่าง

3.5.4.2 การ clean up ด้วยคอลัมน์ Sep-Pak cartridge (ข้อ 3.2.2.1) มีขั้นตอนดังนี้

- ปิเปต 10 มิลลิลิตร 2-โพรพานอล (ข้อ 3.3.9) ใส่ลงในคอลัมน์ Sep-Pak cartridge (ข้อ 3.2.2.1)
- เมื่อ 2-โพรพานอล (ข้อ 3.3.9) ไหลผ่านคอลัมน์จนเกือบหมด ปิเปต 10 มิลลิลิตร กรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ (ข้อ 3.2.12) ใส่ลงในคอลัมน์ Sep-Pak cartridge (ข้อ 3.2.2.1)
- เมื่อสารละลายในคอลัมน์ไหลจนเกือบหมด เติมสารละลายตัวอย่าง (เติม 0.1 มิลลิลิตร กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (ข้อ 3.3.11) ลงในตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน) ลงในคอลัมน์ Sep-Pak (ข้อ 3.2.2.1)
- สกัดสีจาก Sep-Pak cartridge (ข้อ 3.2.2.1) ด้วยสารละลายสกัดสี (ข้อ 3.3.21) ลงในขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายสกัดสี (ข้อ 3.3.21)
- ปิเปต 5 มิลลิลิตร สารละลายตัวอย่างลงในขวดปริมาตร 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยแอมโมเนียมอะซิเตด 0.5 โมลาร์ (ข้อ 3.3.15)

3.5.4.3 กรองสารละลายตัวอย่างผ่านกระดาษกรองเมมเบรน ซึ่งมีรูพรุนขนาด 0.45 ไมโครเมตร (ข้อ 3.2.2.3) ก่อนนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสีด้วยเครื่อง HPLC

3.5.4.4 ปรับสภาวะของเครื่อง HPLC ดังนี้

เฟสเคลื่อนที่ : เมทานอล (ข้อ 3.3.13) + สารละลาย
แอมโมเนียมอะซิเตด 0.5 โมลาร์ (ข้อ 3.3.15)

อัตราการไหล : 1 มิลลิลิตร / นาที

เครื่องตรวจจับ : ยูวี ดีเทกเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 300 นาโนเมตร

อุณหภูมิคอลัมน์ : 40°C.

3.5.4.5 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายสีมาตรฐาน

ฉีดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ 4 ระดับ (หน่วยเป็น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) การเตรียมสารละลายมาตรฐานนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสีในตัวอย่าง แล้วนำไปสร้างกราฟมาตรฐาน

3.5.4.6 ฉีดสารละลายตัวอย่างเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐาน

ค่า RT ของแต่ละโครมาโตแกรม จะเป็นตัวบ่งชี้ชนิดของสี

3.5.4.7 คำนวณปริมาณสีโดยใช้กราฟมาตรฐาน

$$FC = \frac{M \times V \times D}{W}$$

FC = ปริมาณสีคำนวณเป็น มิลลิกรัม / กิโลกรัม

M = ปริมาณสีอ่านจากกราฟเป็น ไมโครกรัม / มิลลิลิตร

V = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างทั้งหมดเป็น มิลลิลิตร

D = อัตราส่วนการเจือจาง (dilution factor) ถ้ามีการเจือจาง

W = น้ำหนักของตัวอย่าง หน่วยเป็น กรัม

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การทดลองหาชนิดของสีโดยวิธีรงค์เลขผิบบาง (Thin Layer Chromatography) ในตัวอย่างลูกกวาดจำนวน 28 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4) ได้ผลดังนี้

4.1.1 พบสีชนิดเดียวในตัวอย่างลูกกวาด 9 ตัวอย่าง คือ

- ตาร์ตราซีน จำนวน 2 ตัวอย่าง
- บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ จำนวน 6 ตัวอย่าง
- ออลูราเรด จำนวน 1 ตัวอย่าง

4.1.2 พบสีผสมมากกว่าหนึ่งชนิด ในตัวอย่างลูกกวาด 19 ตัวอย่าง คือ

4.1.2.1 สีผสม 2 ชนิด

- ตาร์ตราซีน กับ อินดิโกคาร์มีน จำนวน 2 ตัวอย่าง
- ออลูราเรด กับ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ จำนวน 3 ตัวอย่าง
- ตาร์ตราซีน กับ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ จำนวน 7 ตัวอย่าง
- อินดิโกคาร์มีน กับ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ จำนวน 1 ตัวอย่าง
- อินดิโกคาร์มีน กับ ออลูราเรด จำนวน 1 ตัวอย่าง

4.1.2.2 สีผสม 3 ชนิด

- ตาร์ตราซีน ซัลเซ็ตเย็ลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ กับ อินดิโกคาร์มีน จำนวน 2 ตัวอย่าง
- ตาร์ตราซีน ออลูราเรด กับ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ จำนวน 2 ตัวอย่าง
- ตาร์ตราซีน ซัลเซ็ตเย็ลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ กับ อินดิโกคาร์มีน จำนวน 1 ตัวอย่าง

4.2 การหาปริมาณสีเดียวโดยการใช้เครื่องยูวี-วิชิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ในตัวอย่างลูกกวาด 9 ตัวอย่าง (ข้อ 4.1.1) ได้ผลดังนี้ (ตารางที่ 5)

- ลูกกวาด 2 ตัวอย่าง มีปริมาณสีตาร์ตราซีน อยู่ในช่วง 46.4 - 49.4 มิลลิกรัม / กิโลกรัม
- ลูกกวาด 6 ตัวอย่าง มีปริมาณสีบริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ อยู่ในช่วง 0.81 - 33.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
- ลูกกวาด 1 ตัวอย่าง มีปริมาณสีออลูราเรด เท่ากับ 5.90 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

4.3 การหาปริมาณสีผสมโดยการใช้อุปกรณ์ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิกวิดโครมาโตกราฟี (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ในตัวอย่างลูกกวาด 19 ตัวอย่าง (ข้อ 4.1.2) ได้ผลตามตารางที่ 6 ดังนี้

4.3.1 สีผสม 2 ชนิด จำนวน 14 ตัวอย่าง

- ลูกกวาด 2 ตัวอย่าง พบตาร์ตราซีน กับ อินดิโกคาร์มีน และมีค่าปริมาณรวมของสีอยู่ในช่วง 18.8 – 83.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
- ลูกกวาด 3 ตัวอย่าง พบออลูราเรด กับ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ จำนวน และมีค่าปริมาณรวมของสีอยู่ในช่วง 8.61 – 23.7 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
- ลูกกวาด 7 ตัวอย่าง พบตาร์ตราซีน กับ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ และมีค่าปริมาณรวมของสีอยู่ในช่วง 2.01 – 46.4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
- ลูกกวาด 1 ตัวอย่าง พบอินดิโกคาร์มีน กับ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ และมีค่าปริมาณของสีเท่ากับ 9.61 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
- ลูกกวาด 1 ตัวอย่าง พบอินดิโกคาร์มีน กับ ออลูราเรด และมีค่าปริมาณของสีเท่ากับ 79.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

4.3.2 สีผสม 3 ชนิด จำนวน 5 ตัวอย่าง

- ลูกกวาด 2 ตัวอย่าง พบตาร์ตราซีน ซัลเซ็ตเย็ลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ กับ อินดิโกคาร์มีน และมีค่าปริมาณรวมของสีอยู่ในช่วง 21.3 – 37.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
- ลูกกวาด 2 ตัวอย่าง พบตาร์ตราซีน ออลูราเรด กับ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ และมีค่าปริมาณรวมของสีอยู่ในช่วง 25.1 – 36.8 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
- ลูกกวาด 1 ตัวอย่าง พบตาร์ตราซีน ซัลเซ็ตเย็ลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ กับ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ และมีค่าปริมาณรวมของสีเท่ากับ 13.3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

สรุปผลการทดลอง

5.1 การทดลองหาชนิดของสีโดยวิธีรังคเลขผิวนาง (Thin Layer Chromatography) ในตัวอย่างลูกกวาด จำนวน 28 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4) พบว่ามี 9 ตัวอย่างใช้สีเดียว และ 19 ตัวอย่าง ใช้สีผสมมากกว่าหนึ่งชนิด โดยมี 14 ตัวอย่าง ใช้สีผสม 2 ชนิด และ 6 ตัวอย่าง ใช้สีผสม 3 ชนิด

5.2 การทดลองหาปริมาณสีเดียวในตัวอย่างลูกกวาดจำนวน 9 ตัวอย่าง โดยการใช้เครื่องยูวี-วิชิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (ตารางที่ 5) พบว่า มีลูกกวาด 2 ตัวอย่าง มีปริมาณสีตาร์ตราซีนอยู่ในช่วง 46.4 - 49.4 มิลลิกรัม / กิโลกรัม ลูกกวาด 6 ตัวอย่าง มีปริมาณสีบิลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ อยู่ในช่วง 0.81 - 33.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และลูกกวาด 1 ตัวอย่าง มีปริมาณสีออสุราเรต เท่ากับ 5.90 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

5.3 การหาปริมาณสีผสมโดยการใช้เครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิกวิดโครมาโตกราฟี (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ในตัวอย่างลูกกวาด 19 ตัวอย่าง พบว่าลูกกวาด 14 ตัวอย่าง มีสีผสม 2 ชนิด และลูกกวาด 5 ตัวอย่าง มีสีผสม 3 ชนิด โดยสีผสม 2 ชนิด มีผลรวมของปริมาณสีอยู่ในช่วง 8.61 - 83.0 มิลลิกรัม /กิโลกรัม และสีผสม 3 ชนิด มีผลรวมปริมาณสีอยู่ในช่วง 13.3 - 37.0 มิลลิกรัม /กิโลกรัม

5.4 ผลการตรวจสอบตัวอย่างลูกกวาด จำนวน 28 ตัวอย่าง พบการใช้สีที่อนุญาตให้ใช้ได้ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 66 (พ.ศ.2525) จำนวน 22 ตัวอย่าง และสีที่ไม่อนุญาตให้ใช้ จำนวน 6 ตัวอย่าง

วิจารณ์ผล

การทดลองหาปริมาณสีในตัวอย่างลูกกวาด จำนวน 28 ตัวอย่างพบว่ามี 6 ตัวอย่างที่ใช้สีออสุราเรตที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในอาหาร ทำให้ผู้ประกอบการไม่สามารถจำหน่ายลูกกวาดนี้ในประเทศได้ เว้นแต่จะส่งออกไปจำหน่ายในประเทศที่อนุญาตให้ใช้ได้ เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา

ส่วนลูกกวาดอีก 22 ตัวอย่าง ใช้สีตามที่อนุญาตให้ใช้ได้แต่เมื่อหาผลรวมของปริมาณสีแล้ว จะพบว่ามี 1 ตัวอย่างที่มีปริมาณรวมของสีเกินเกณฑ์กำหนด คือ 83 มิลลิกรัม /กิโลกรัม แม้ว่าจะใช้สีที่อนุญาตแต่ไปปริมาณที่เกินกำหนดผู้บริโภคมีความเสี่ยงที่จะได้รับอันตรายถ้ายังบริโภคอาหารประเภทนี้เป็นประจำ ดังนั้นจึงควรมีการตรวจสอบอาหารประเภท

ลูกกวาดอย่างเข้มงวด และให้ความรู้แก่ผู้ประกอบการเกี่ยวกับการใช้ส่วนผสมอาหารให้ถูกต้อง
เพื่อนำมาปรับปรุงคุณภาพอาหารประเภทลูกกวาดให้มีความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ คุณปรีชา ธรรมนิยม ผู้อำนวยการโครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
คุณสุนทรี เป็รื่องการ และคุณธิดาดวง พลเลิศ ที่กรุณาให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ และ
ขอขอบคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการช่วยให้ผลงานสำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. ดร. นิธยา รัตนานนท์ และดร. วิบูลย์ รัตนานนท์ สารพิษในอาหาร ภาค วิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พิมพ์ครั้งที่ 1 พ.ศ. 2543 สำนักพิมพ์ไอเดียสโตร์
2. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 21 และ ฉบับที่ 66 พ.ศ. 2525 เรื่อง กำหนดสีผสมอาหารเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ และกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานการใช้การผสม และฉลาก
3. จักรพันธ์ ปัญจะสุวรรณ พิษภัยในอาหาร พิมพ์ครั้งที่ 1 พ.ศ. 2542 สำนักพิมพ์ไอเดียสโตร์
4. **AOAC (2000)** Chapter 46 Color Additives
5. **ISO 13496** : 1999 Meat and meat products – Detection of colouring agents – Method using thin – layer chromatography
6. **FDA** : No.3093 “Colors”, Nov.14 , 1986
7. F.Leslie Hart , A.M. and Harry Johnstone Fisher, Ph.D. 1971 **Modern Food Analysis**
8. **Joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA) 1992**
Compendium of food additive specification, volume 2

ภาคผนวก ก

ตาราง

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 สีสังเคราะห์บางชนิดที่เชื่อว่าทำให้เกิดเนื้องอก

สีสังเคราะห์	ตำแหน่ง ที่เกิดมะเร็ง	วิธีการใช้	ชนิดของสัตว์ ทดลอง	อาหารที่พบ
Oil orange E	ตับ	ทางปาก	Mice	อาหารใส่สี
Oil orange HA	ตับ	ทางปาก	Mice	อาหารใส่สี
Oil orange TX	ลำไส้ใหญ่และผิว หนัง	ฉีด	Rat	อาหารใส่สี
Yellow AB&OB	ผิวหนัง	ฉีด	Rat	อาหารใส่สี
Light green FCF	ผิวหนัง	ฉีด	Rat	อาหารใส่สี
Brilliant blue FCF	ผิวหนัง	ฉีด	Rat	อาหารใส่สี
Fast green FCF	ผิวหนัง	ฉีด	Rat	อาหารใส่สี
Butter yellow	ตับ	ฉีด	Rat	อาหารใส่สี

ตารางที่ 2 ปริมาณสีสังเคราะห์ที่ร่างกายควรได้รับในแต่ละวัน

ชื่อสีผสมอาหาร (โดย US FDA)	ชื่อสามัญ	ปริมาณเฉลี่ยที่ควรได้รับ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)
Certified FD&C Colorants		
FD&C Red No.3	Erythrosine	24
FD&C Red No.40	Allura Red AC	100
FD&C Blue No.1	Brilliant Blue FCF	16
FD&C Blue No.2	Indigotine	7.8
FD&C Yellow No.5	Tartrazine	43
FD&C Yellow No.6	Sunset Yellow FCF	37
FD&C Green No.3	Fast Green FCF	4.3
Orange B	Orange B	17.8
FD&C Red No.3 Lake		15
FD&C Red No.40 Lake		27
FD&C Blue No.2 Lake		6.6
FD&C Yellow No.5 Lake		3.1
FD&C Yellow No.6 Lake		14

ตารางที่ 3 ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของสี

ชื่อสีผสมอาหาร (Food Colors)	ค่าสัมประสิทธิ์ การดูดกลืนแสงของสี ($E_{1cm}^{1\%}$)	ความยาวคลื่นที่ การดูดกลืนแสงสูงสุด (wavelength, nm)
ปองโซ 4 อาร์ (Ponceau 4R)	440	506
คาร์โมอีซีน หรือ เอโซรูบิน (Carmoisine or Azorubine)	556	514
ตาร์ตราซีน (Tartrazine)	522	428
เออริโทรซิน (Erythrosine)	1143	525
ซันเซต เยลโลว์ เอ็ฟ ซี เอ็ฟ (Sunset Yellow FCF)	550	484
ฟาสต์ กรีน เอ็ฟ ซี เอ็ฟ (Fast Green FCF)	1560	625
อินดิโกคาร์มีน หรือ อินดิโกติน (Indigo Carmine or indigotine)	496	610
บริลเลียนท์บลู เอ็ฟ ซี เอ็ฟ (Brilliant Blue FCF)	1640	630

ตารางที่ 4 ผลการทดลองหาชนิดของสีในตัวอย่างลูกกวาด 28 ตัวอย่าง โดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)

ลำดับที่	ลักษณะตัวอย่าง	ชนิดของสี
1	เป็นเม็ดลูกอมสีเหลือง	ดาร์ตราซีน
2	เป็นชั้นสีฟ้า	บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
3	เป็นชั้นสีขาวอมชมพู	ออลูราเรด
4	เป็นเม็ดสีน้ำเงิน	บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
5	เป็นชั้นสีขาว มีเม็ดสีน้ำเงินผสม	บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
6	เป็นเม็ดสีเหลือง	ดาร์ตราซีน
7	เป็นเม็ดสีเขียว	บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
8	เป็นชั้นสีฟ้า	บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
9	เป็นเม็ดสีฟ้า	บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
10	เป็นชั้นสีเขียวอ่อน	ดาร์ตราซีน ซัลเซ็ตเย็ลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ อินดิโกคาร์มีน
11	เป็นชั้นสีเขียวอ่อน	ดาร์ตราซีน อินดิโกคาร์มีน
12	เป็นชั้นสีชมพู	ออลูราเรด บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
13	เป็นชั้นสีเขียว	ดาร์ตราซีน ออลูราเรด บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
14	เป็นเม็ดสีเขียว	ดาร์ตราซีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
15	เป็นเม็ดสีเขียว	ดาร์ตราซีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
16	เป็นเม็ดสีเขียว	ดาร์ตราซีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
17	เป็นเม็ดสีเขียวอ่อน	ดาร์ตราซีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
18	เป็นเม็ดสีน้ำเงิน	อินดิโกคาร์มีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ลำดับที่	ลักษณะตัวอย่าง	ชนิดของสี
19	เป็นเม็ดสีแดง	อินดิโกคาร์มีน ออลูราเรด
20	เป็นชั้นสีชมพู	ออลูราเรด บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
21	เป็นชั้นสีเขียวอ่อน	ดาร์ตราซีน ออลูราเรด บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
22	เป็นชั้นสีชมพู	ออลูราเรด บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
23	เป็นชั้นสีเขียว	ดาร์ตราซีน อินดิโกคาร์มีน
24	เป็นเม็ดสีเขียว	ดาร์ตราซีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
25	เป็นเม็ดสีฟ้า	ดาร์ตราซีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
26	เป็นเม็ดสีเขียวอ่อน	ดาร์ตราซีน ซันเซ็ตเย็ลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
27	เป็นเม็ดสีเขียว	ดาร์ตราซีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ
28	เป็นเม็ดสีเขียว	ดาร์ตราซีน อินดิโกคาร์มีน ซันเซ็ตเย็ลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ

ตารางที่ 5 ผลการทดลองหาปริมาณสีเดี่ยวในตัวอย่างลูกกวาด 9 ตัวอย่าง โดยวิธียูวี – วิชิ เบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ลำดับ ที่	ลักษณะตัวอย่าง	ชนิดของสี	ปริมาณสี มิลลิกรัม/กิโลกรัม	ปริมาณสีที่ให้เติมได้* มิลลิกรัม/กิโลกรัม
1	เป็นเม็ดลูกอมสีเหลือง	ตาร์ตราซิน	49.4	70
2	เป็นชิ้นสีฟ้า	บิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	5.32	50
3	เป็นชิ้นสีขาวอมชมพู	ออลูราเรด	5.90	ไม่อนุญาตให้ใช้
4	เป็นเม็ดสีน้ำเงิน	บิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	3.36	50
5	เป็นชิ้นสีขาว มีเม็ดสี น้ำเงินผสม	บิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	0.81	50
6	เป็นเม็ดสีเหลือง	ตาร์ตราซิน	46.4	70
7	เป็นเม็ดสีเขียว	บิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	33.1	50
8	เป็นชิ้นสีฟ้า	บิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	6.06	50
9	เป็นเม็ดสีฟ้า	บิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	3.55	50

หมายเหตุ : ปริมาณสีที่ให้เติมได้ * หมายถึง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 66(พ.ศ. 2525)² ได้กำหนดการใช้สีผสมในอาหารประเภทลูกกวาด โดยอนุญาตให้ใช้สีผสมอาหารดังนี้

- เอโซรูบีน เออร์โทรซิน ตาร์ตราซิน ซันเซ็ต เยลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ ฟาสต์กรีนเอ็ฟซีเอ็ฟ อินดิโกคาร์มีน ปริมาณสีที่ให้เติมได้ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
- ส่วนสีปองโซ 4 อาร์ และสีบิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ ให้ใช้ได้ไม่เกิน 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

การใช้สีดังกล่าว เมื่อใช้รวมกันตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป ต้องมีปริมาณรวมของสีทุกชนิดไม่เกินปริมาณของสีชนิดที่กำหนดให้ใช้น้อยที่สุด

ตารางที่ 6 ผลการทดลองหาปริมาณสีผสมในตัวอย่างลูกกวาด 22 ตัวอย่าง โดยเครื่อง HPLC

ลำดับที่	ลักษณะตัวอย่าง	ชนิดของสี	ปริมาณสี มิลลิกรัม/ กิโลกรัม	ปริมาณรวมสี มิลลิกรัม/ กิโลกรัม	ปริมาณสีที่ให้ เดิมได้* มิลลิกรัม/ กิโลกรัม
1	เป็นชิ้นสีเขียว อ่อน	ตาร์ตราซีน ซัลเซิตเยิลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ อินดิโกคาร์มีน	14.8 5.14 17.1	37.0	70
2	เป็นชิ้นสีเขียว อ่อน	ตาร์ตราซีน อินดิโกคาร์มีน	21.6 61.4	83.0	70
3	เป็นชิ้นสีชมพู	ออลูราเรด บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	10.3 0.33	10.6	ไม่อนุญาตให้ ใช้สีออลูรา เรด
4	เป็นชิ้นสีเขียว	ตาร์ตราซีน ออลูราเรด บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	27.4 6.28 3.14	36.8	ไม่อนุญาตให้ ใช้สีออลูรา เรด
5	เป็นเม็ดสีเขียว	ตาร์ตราซีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	17.2 12.0	29.2	50
6	เป็นเม็ดสีเขียว	ตาร์ตราซีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	21.0 15.1	36.1	50
7	เป็นเม็ดสีเขียว	ตาร์ตราซีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	27.6 18.8	46.4	50
8	เป็นเม็ดสีเขียว อ่อน	ตาร์ตราซีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	1.68 0.33	2.01	50
9	เป็นเม็ดสีน้ำเงิน	อินดิโกคาร์มีน บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	0.43 9.18	9.61	50
10	เป็นเม็ดสีแดง	อินดิโกคาร์มีน ออลูราเรด	0.44 78.7	79.1	ไม่อนุญาตให้ ใช้สีออลูรา เรด
11	เป็นชิ้นสีชมพู	ออลูราเรด บริลเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	8.45 0.16	8.61	ไม่อนุญาตให้ ใช้สีออลูรา เรด

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ลำดับที่	ลักษณะตัวอย่าง	ชนิดของสี	ปริมาณสี มิลลิกรัม/ กิโลกรัม	ปริมาณรวมสี มิลลิกรัม/ กิโลกรัม	ปริมาณสีที่ให้เต็มได้* มิลลิกรัม/ กิโลกรัม
12	เป็นชั้นสีเขียวอ่อน	คาร์ตราซีน ออลูราเรด บิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	19.0 4.57 1.52	25.1	ไม่อนุญาตให้ใช้สีออลูราเรด
13	เป็นชั้นสีชมพู	ออลูราเรด บิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	22.5 1.18	23.7	ไม่อนุญาตให้ใช้สีออลูราเรด
14	เป็นชั้นสีเขียว	คาร์ตราซีน อินดิโกคาร์มีน	15.3 3.54	18.8	70
15	เป็นเม็ดสีเขียว	คาร์ตราซีน บิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	24.9 13.8	38.7	50
16	เป็นเม็ดสีฟ้า	คาร์ตราซีน บิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	2.18 9.92	12.1	50
17	เป็นเม็ดสีเขียวอ่อน	คาร์ตราซีน ซันเช็ตเย็ลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ บิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	12.2 0.17 0.94	13.3	50
18	เป็นเม็ดสีเขียว	คาร์ตราซีน บิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ	14.1 9.56	23.7	50
19	เป็นเม็ดสีเขียว	คาร์ตราซีน อินดิโกคาร์มีน ซันเช็ตเย็ลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ	10.4 8.91 2.01	21.3	70

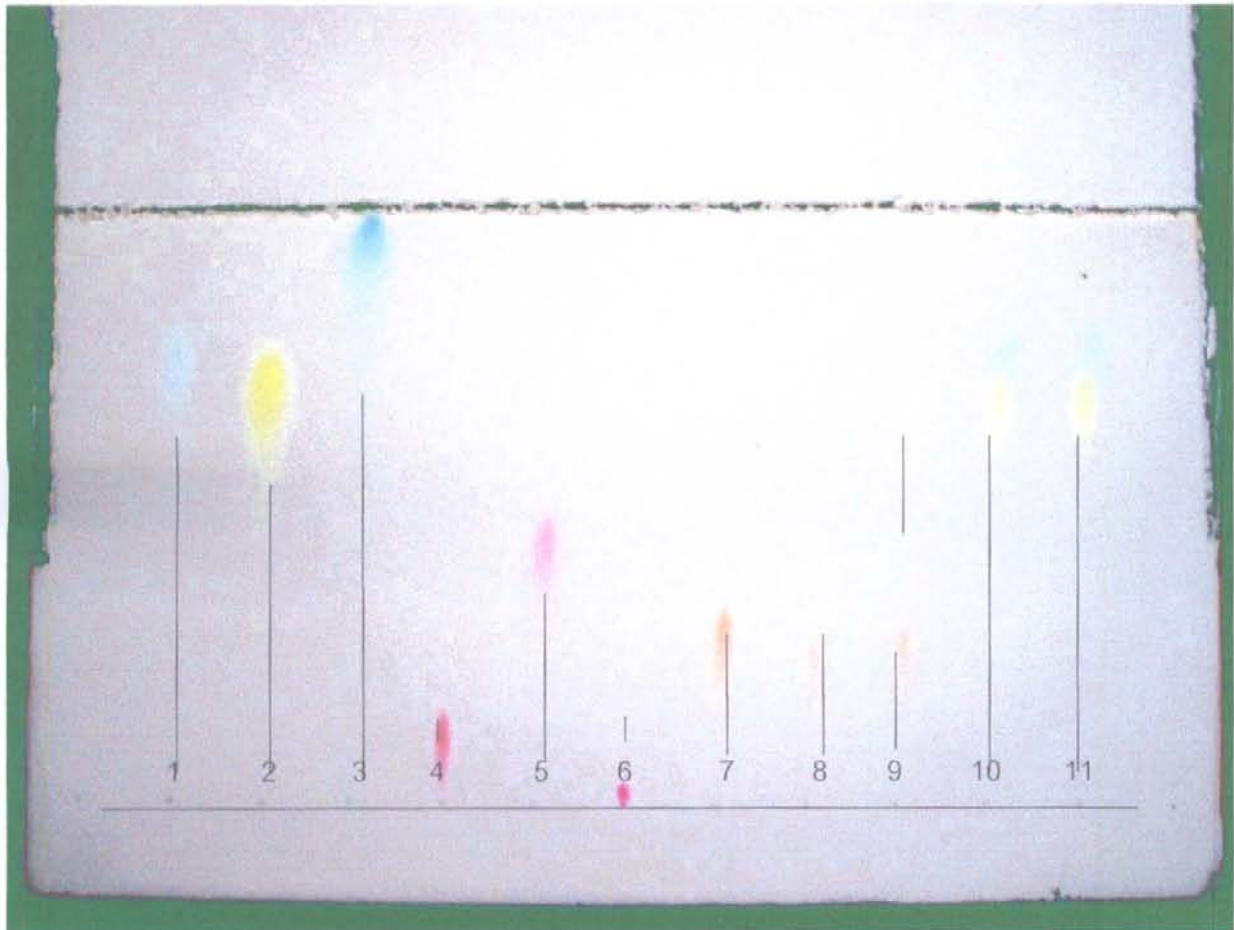
หมายเหตุ : ปริมาณสีที่ให้เต็มได้* หมายถึง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 66 (พ.ศ. 2525)² ได้กำหนดการใช้สีผสมในอาหารประเภทลูกกวาด โดยอนุญาตให้ใช้สีผสมอาหารดังนี้

- เอโซรูบีน เออร์โทรซีน คาร์ตราซีน ซันเช็ต เย็ลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ ฟาสต์กรีนเอ็ฟซีเอ็ฟ อินดิโกคาร์มีน ปริมาณสีที่ให้เต็มได้ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
- ส่วนสีปองโซ 4 อาร์ และสีบิลิเลียนท์บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ ให้ใช้ได้ไม่เกิน 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

การใช้สีดังกล่าว เมื่อใช้รวมกันตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป ต้องมีปริมาณรวมของสีทุกชนิดไม่เกินปริมาณของสีชนิดที่กำหนดให้ใช้น้อยที่สุด

ภาคผนวก ข

รูปภาพและโครมาโทแกรม การวิเคราะห์ปริมาณสี



รูปที่ 4 แสดงการเคลื่อนที่ของสารละลายมาตรฐานของสีผสมอาหารและสารละลายตัวอย่าง
ในตัวทำละลายชนิดที่ 1

จุดที่ 1 บริลเลียนท์บลู เอ็ฟ ซี เอ็ฟ

จุดที่ 2 ทาร์ตราซีน

จุดที่ 3 ฟาสต์ กรีน เอ็ฟ ซี เอ็ฟ

จุดที่ 4 คาร์โมอีซีน

จุดที่ 5 ปองโซ 4 อาร์

จุดที่ 6 เออร์โรซีน

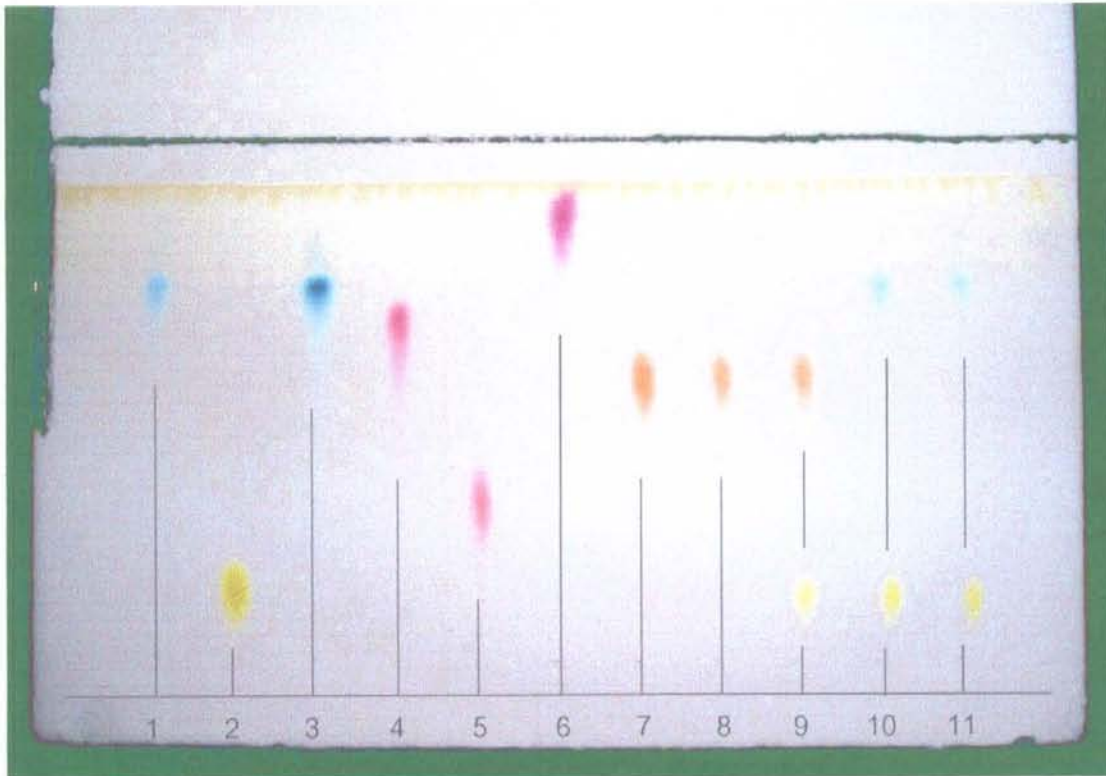
จุดที่ 7 ซันเซ็ท เย็ลโลว์ เอ็ฟ ซี เอ็ฟ

จุดที่ 8 ตัวอย่าง 1 พบ ซัลเซ็ท เย็ลโลว์ เอ็ฟ ซี เอ็ฟ

จุดที่ 9 ตัวอย่าง 2 พบ ซัลเซ็ท เย็ลโลว์ เอ็ฟ ซี เอ็ฟ และทาร์ตราซีน

จุดที่ 10 ตัวอย่าง 3 พบ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟ ซี เอ็ฟ ซี เอ็ฟ และทาร์ตราซีน

จุดที่ 11 ตัวอย่าง 4 พบ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟ ซี เอ็ฟ ซี เอ็ฟ และทาร์ตราซีน



รูปที่ 5 แสดงการเคลื่อนที่ของสารละลายมาตรฐานของสีผสมอาหารและสารละลายตัวอย่าง ในตัวทำละลายชนิดที่ 2

จุดที่ 1 บริลเลียนท์บลู เอ็ฟ ซี เอ็ฟ

จุดที่ 2 ทาร์ตราซีน

จุดที่ 3 ฟาสต์ กรีน เอ็ฟ ซี เอ็ฟ

จุดที่ 4 คาร์โมอีซีน

จุดที่ 5 ปองโซ 4 อาร์

จุดที่ 6 เออร์โรซีน

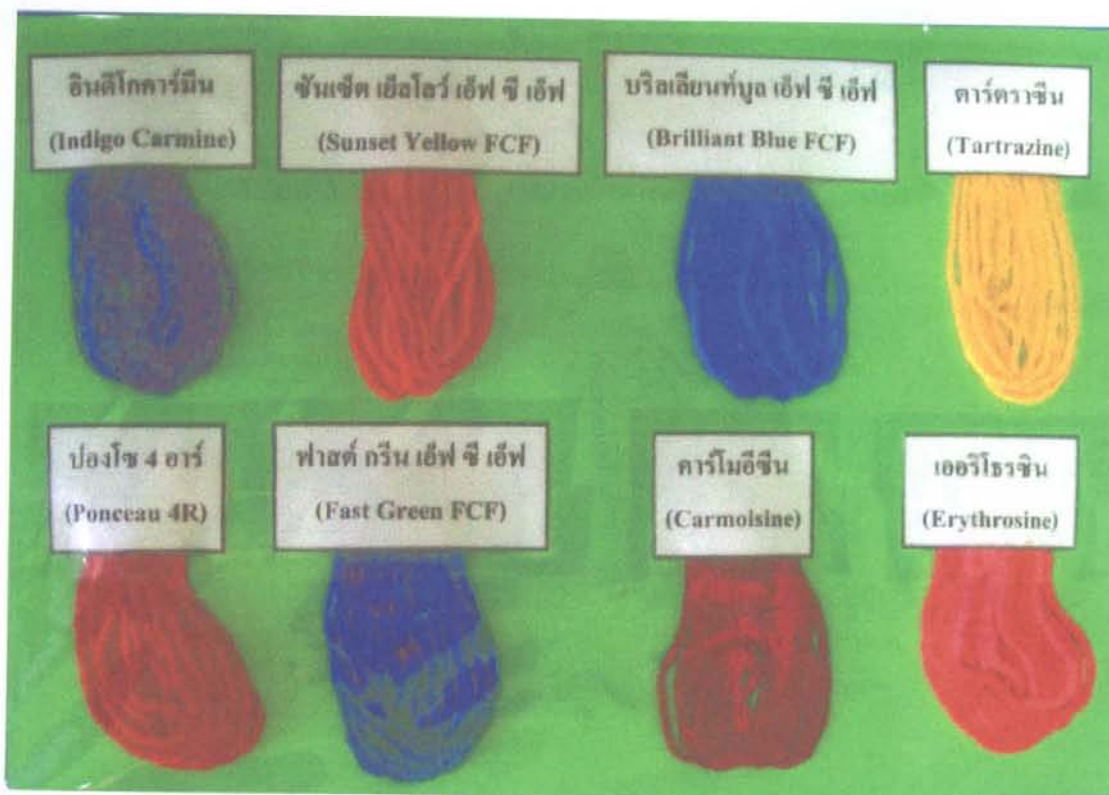
จุดที่ 7 ซันเซ็ท เย็ลโลว์ เอ็ฟ ซี เอ็ฟ

จุดที่ 8 ตัวอย่าง 1 พบ ซัลเซ็ท เย็ลโลว์ เอ็ฟ ซี เอ็ฟ

จุดที่ 9 ตัวอย่าง 2 พบ ซัลเซ็ท เย็ลโลว์ เอ็ฟ ซี เอ็ฟ และทาร์ตราซีน

จุดที่ 10 ตัวอย่าง 3 พบ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟ ซี เอ็ฟ ซี เอ็ฟ และทาร์ตราซีน

จุดที่ 11 ตัวอย่าง 4 พบ บริลเลียนท์บลู เอ็ฟ ซี เอ็ฟ ซี เอ็ฟ และทาร์ตราซีน



รูปที่ 6 แสดงการติดสีผสมอาหารของไหมพรม ในสารละลายมาตรฐานสีผสมอาหาร



รูปที่ 7 แสดงลักษณะของสีผสมอาหารจำพวกอินทรีย์ที่ได้จากการสังเคราะห์ ดังต่อไปนี้

- 1 จำพวกสีแดง
 ปองโซ 4 อาร์
 คาร์โมอีนหรือเอโซรูบิน
 เออริโทรซิน
- 2 จำพวกสีเหลือง
 ดาร์ตราซีน
 ชันเซต เยลโลว์ เอ็ฟซีเอ็ฟ
 โรโบฟลาวิน
- 3 จำพวกสีเขียว
 ฟาสต์ กรีน เอ็ฟซีเอ็ฟ
- 4 จำพวกสีน้ำเงิน
 อินดิโกคาร์มีน หรืออินดิโกติน
 บริลเลียนท์ บลู เอ็ฟซีเอ็ฟ



รูปที่ 8 แสดงลักษณะของสีผสมอาหารจำพวกสีที่ได้จากธรรมชาติโดยการสกัดพืชและสัตว์ที่ใช้บริโภคได้โดยไม่เกิดอันตราย และสีชนิดเดียวกันที่ได้จากการสังเคราะห์

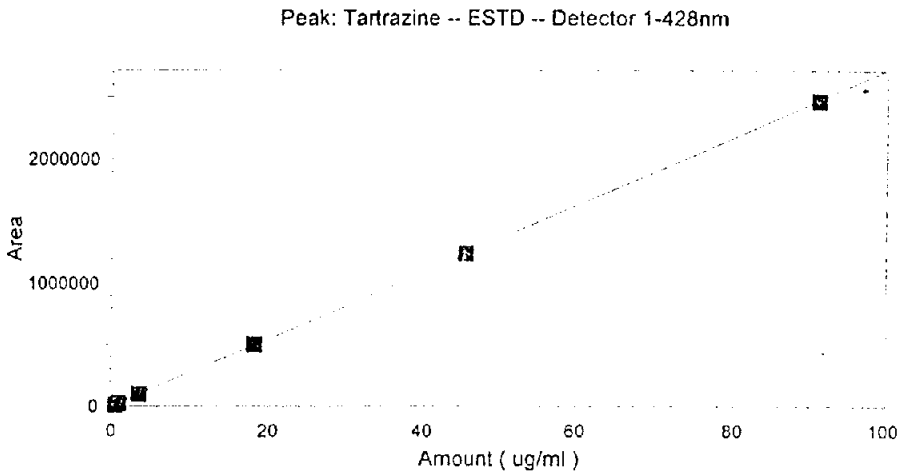


รูปที่ 9 แสดงลักษณะของสื่อนินทรีย์ผสมอาหารจำพวกสัตว์ที่ได้จากอนินทรีย์

ChromQuest Calibration Report

Method Name C:\ChromQuest\METHODS\Color\Feb20022004.met
User Name Jutathip_L
Run Time 2/18/04 2:49:55 PM
Print Time 2/23/04 2:50:27 PM

Tartrazine (Detector 1-428nm)
 Average RF: 27850.2 RF StDev: 637.975 RF %RSD: 2.29074
 Scaling: None LSQ Weighting: None Force Through Zero: On
 Replicate Mode: Replace
 Fit Type: Linear
 $y = 27162.8x + 0$
 Goodness of fit (r^2): 0.999963

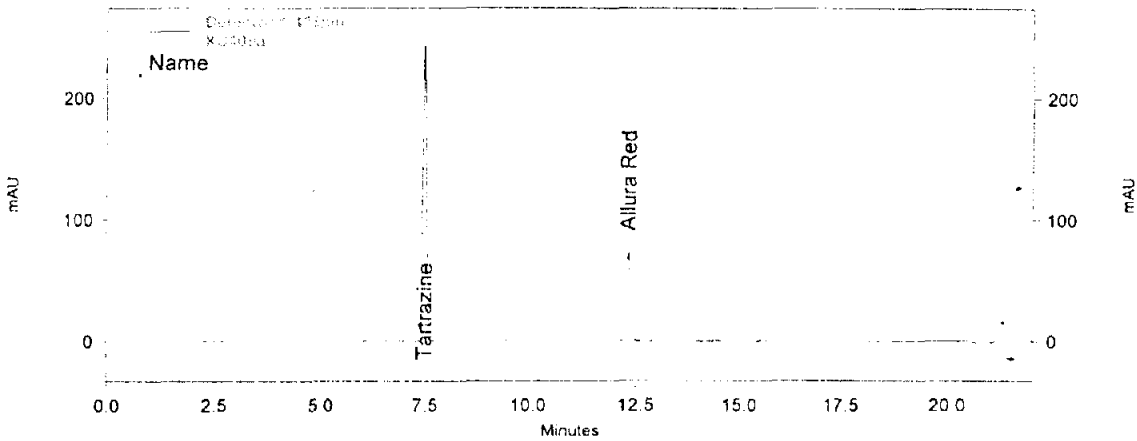


Trace: Detector
 1-428nm
 Peak: Tartrazine

	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5	Level 6
Area	13117	25914	101653	503734	1246703	2471434
Amount	0.456	0.912	3.648	18.24	45.6	91.2
RF	28765.4	28414.5	27865.4	27617	27340	27099.1
Last Area						
Rep StDev						
Rep %RSD						
Rep RF 1	28765.4	28414.5	27865.4	27617	27340	27099.1

ChromQuest Custom Report HPLC UV2000

File Name C:\ChromQuest\DATA\Color\TAB9.dat
Method Name C:\ChromQuest\METHODS\Color\Feb18022004.met
Sample ID XC409a *to 25.5927 g → 10 ml (H₂O)*
Vial A09
Injection Volume 10 ul
User Name Jutathip_L
Run Time 2/18/04 3:13:17 PM
Print Time 2/18/04 4:59:45 PM



Detector
 I-428nm Results
 (Reprocessed)

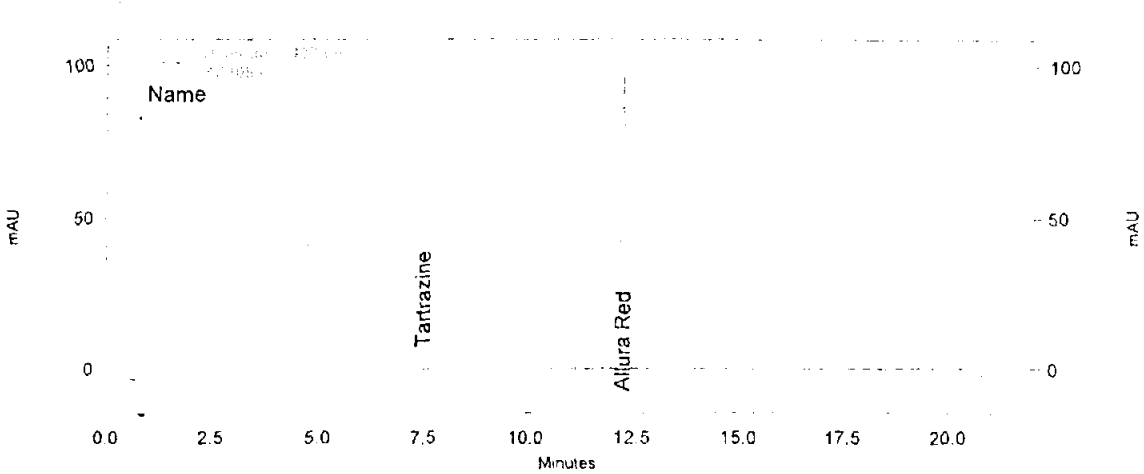
Name	Retention Time	Area	Height	ESTD concentration	Units
✓ Tartrazine	7.143	72	21	0.0000	
✓ Allura Red	7.483	1550949	243259	57.3946	ug/ml
	12.327	512032	73024	20.2903	ug/ml

Totals		2063053	316304	77.6849	
--------	--	---------	--------	---------	--

ChromQuest Custom Report

HPLC UV2000

File Name C:\ChromQuest\DATA\Color\TAB6.dat
 Method Name C:\ChromQuest\METHODS\Color\Feb18022004.met
 Sample ID XC408a ~~21.0739~~ g → 10 ml (for)
 Vial A06
 Injection Volume 10 ul
 User Name Jutathip_L
 Run Time 2/18/04 2:03:12 PM
 Print Time 2/18/04 2:57:23 PM



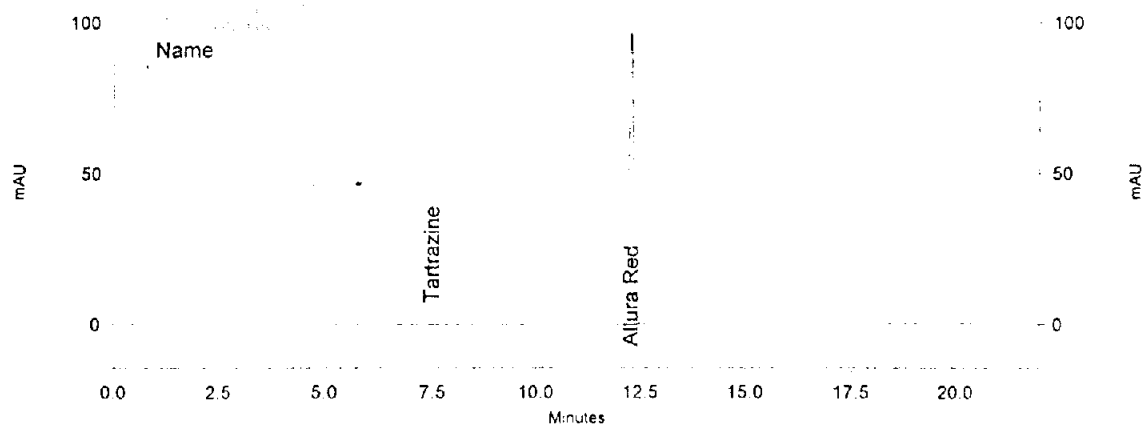
Detector
 1-428nm Results
 (Reprocessed)

Name	Retention Time	Area	Height	ESTD concentration	Units
× Tartrazine	7.158	192	22	0.0000	
	7.477	1515	241	0.0000	ug/ml
	7.658	30	4	0.0000	
✓ Allura Red	12.282	692189	96268	27.3949	ug/ml
Totals		693926	96535	27.3949	

ChromQuest Custom Report

HPLC UV2000

File Name C:\ChromQuest\DATA\Color\TAB7.dat
Method Name C:\ChromQuest\METHODS\Color\Feb18022004.met
Sample ID XC408b
Vial A07 *21.0515 g → 10 ml (20)*
Injection Volume 10 ul
User Name Jutathip_L
Run Time 2/18/04 2:26:34 PM
Print Time 2/18/04 2:58:17 PM



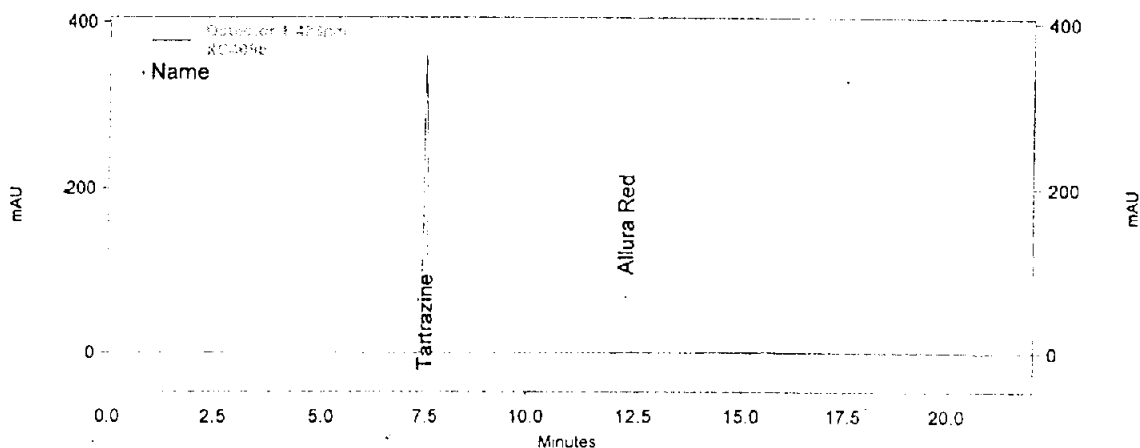
Detector
 I-428nm Results
 (Reprocessed)

Name	Retention Time	Area	Height	ESTD concentration	Units
✗ Tartrazine	7.467	833	145	0.0000	ug/ml
✓ Allura Red	12.270	686747	96607	27.1803	ug/ml
	12.572	20	8	0.0000	
Totals		687600	96760	27.1803	

ChromQuest Custom Report

HPLC UV2000

File Name C:\ChromQuest\DATA\Color\TAB10.dat
 Method Name C:\ChromQuest\METHODS\Color\Feb18022004.met
 Sample ID XC409b *25.4556 g → 10 ml (60)*
 Vial A10
 Injection Volume 10 ul
 User Name Jutathip_L
 Run Time 2/18/04 3:36:39 PM
 Print Time 2/18/04 5:00:36 PM



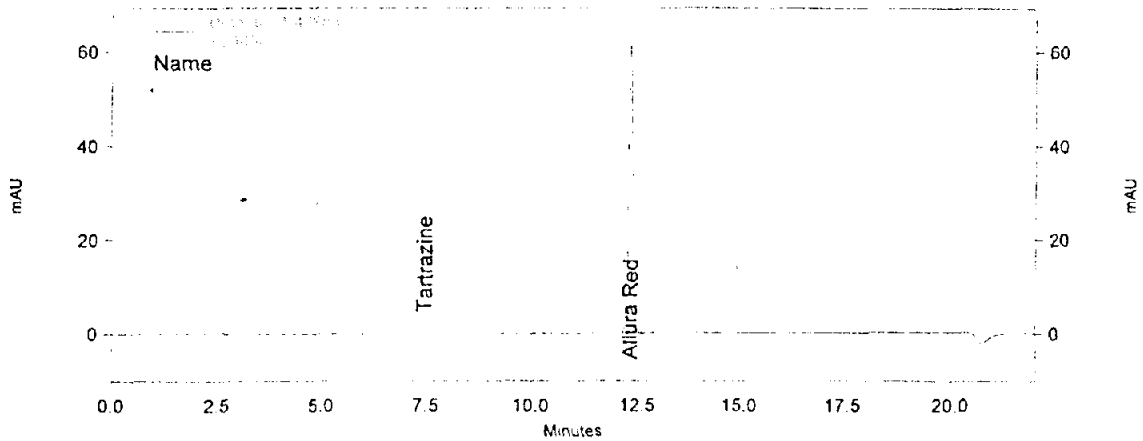
Detector
 1-428nm Results
 (Reprocessed)

Name	Retention Time	Area	Height	ESTD concentration	Units
✓ Tartrazine	7.150	61	26	0.0000	
✓ Allura Red	7.480	2278407	360361	84.4223	ug/ml
	12.310	495520	69700	19.6391	ug/ml
Totals		2773988	430087	104.0614	

ChromQuest Custom Report

HPLC UV2000

File Name C:\ChromQuest\DATA\Color\FAB8.dat
Method Name C:\ChromQuest\METHODS\Color\Feb18022004.met
Sample ID XC408c
Vial A08 *13.4510 g → 10 ml (dil)*
Injection Volume 10 ul
User Name Jutathip_L
Run Time 2/18/04 2:49:55 PM
Print Time 2/23/04 2:34:33 PM



Detector
 I-428nm Results
 (Reprocessed)

Name	Retention Time	Area	Height	ESTD concentration	Units
×	Tartrazine	7.327	194	36	0.0000
		7.453	415	69	0.0000
		7.623	61	21	0.0000
✓	Allura Red	12.318	429374	61244	17.0066
		12.650	277	65	0.0000

Totals		430321	61435	17.0066	
--------	--	--------	-------	---------	--